

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES



EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE ESPECIES NATIVAS DE HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES EN CEDRO ROJO

(Cedrela odorata L.)

EMMANUEL FERNÁNDEZ CRUZ

T E S I S

Presentada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS FORESTALES

Enero 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO

T E S I S

**EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE ESPECIES NATIVAS DE
HONGOS MICORRÍMICOS ARBUSCULARES EN CEDRO ROJO**
(Cedrela odorata L.)

Presentada por:

Ing. Emmanuel Fernández Cruz

Como requisito parcial para obtener el grado de:
MAESTRÍA EN CIENCIAS FORESTALES

COMITÉ EVALUADOR DE TESIS:



Dr. José Guadalupe Marmolejo Moncivais

Presidente



Dr. César Martín Cantú Ayala

Secretario



Dr. Humberto González Rodríguez

Vocal



Dr. Heriberto Méndez Cortés

Asesor externo

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la fuerza y guiarme en el camino que tú mismo trazaste para mí.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgarme la vital beca para realizar los estudios de maestría en ciencias forestales.

A la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma de Nuevo León y en especial al cuerpo de profesores-investigadores que forjaron mi perfil profesional con sus conocimientos y experiencia.

Al comité de tesis, donde todos los integrantes de manera honesta, capaz y respetuosa crearon un ambiente de confianza y responsabilidad en el desarrollo de esta investigación.

Al Dr. José Guadalupe Marmolejo Moncivais por la confianza brindada, calidez y sencillez que lo caracteriza, conformando un ambiente de trabajo placentero, así como en cada una de sus acertadas recomendaciones. Le agradezco su paciencia y tolerancia al compartir sus conocimientos que ahora son parte de mi formación profesional.

Al Dr. César Martín Cantú Ayala por sus acertadas recomendaciones en el ámbito científico, gracias por siempre estar dispuesto a conversar sobre la estructuración de la tesis, además de sus comentarios y sugerencias que mejoraron este escrito.

Al Dr. Humberto González Rodríguez por su activa participación, propositiva y entusiasta en la elaboración de la investigación, gracias por sus comentarios, sugerencias, acertadas observaciones y por su amistad.

Al Dr. Heriberto Méndez Cortés mi asesor externo y amigo por ser precursor en mi formación científica, con su entusiasta participación en el análisis estadístico, generación de gráficos, sus acertados comentarios en torno al escrito, presentación de tesis y extrema paciencia y tolerancia. Gracias por compartirme parte de tu conocimiento y experiencia.

A Cecilia Casas López por la amistad incondicional, sus siempre atinados consejos dentro y fuera del laboratorio. Así como también te agradezco el saber escucharme en tiempos difíciles.

DEDICATORIA

A mis padres Felicitos Fernández Elvira y Herlinda Cruz Rebolledo por su consistente apoyo en la realización de mis ideales, analizando cada tropiezo y aconsejándome en cada victoria con la finalidad de hacer de mí, un hombre honesto y mejor ser humano preparado para la vida. A mis hermanas Adriana Fernández Cruz y Jehymi Fernández Cruz que sin duda su apoyo integro y buenos deseos hicieron posible alcanzar un peldaño más. Gracias por conformar el equipo más fuerte e invencible, capacitado para resolver cualquier problema en nuestra empresa fundada con bases y columnas de amor familiar.

Para mi hijín, Emmanuel Fernández Chávez promotor de pensamientos positivos para seguir educándome y poder hacerlo también contigo.

Indudablemente a la mujer dulce, digna, hermosa, inteligente, responsable y noble que me entregó su amor incondicional. Claudia Verónica Doria Treviño que viviste cada uno de mis altibajos y te mantuviste firme para lograr uno más de nuestros objetivos. Has hecho de mí un mejor hombre con tus sabias palabras aunadas invariablemente a precisas acciones. Que Dios te bendiga siempre Claudita del alma mía y me permita agradecerte el resto de nuestras vidas.

EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE ESPECIES NATIVAS DE HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES EN CEDRO ROJO (*Cedrela odorata* L.)

Emmanuel Fernández Cruz

RESUMEN

Debido a la importancia en la interacción simbiótica de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) con especies vegetales, así como la escasa información de los beneficios que ofrecen estos hongos en especies tropicales de importancia económica y forestal. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos de algunas especies de hongos micorrícicos nativos del estado de Veracruz asociadas a plantas de *Cedrela odorata* en la etapa inicial de crecimiento. Se utilizaron diferentes regímenes de fertilización representadas en partes por millón (RF: 0, 12.5, 25, 37.5 ppm) de una mezcla de los fertilizantes 7-7-17 entre la semana 1 a la 5 después de la siembra (dds), 20-7-19 en la semana 7 hasta la 13 (dds) y 4-7-35 en la semana 14 a la 18 (dds). Las variables evaluadas fueron: el diámetro, la altura, número de hojas cada 20 días, mientras que el peso seco del tallo y raíz así como el porcentaje de colonización se determinó a los 4 meses después de establecido el experimento, el cual fue diseñado en un arreglo factorial aleatorizado con base a los 2 factores principales (HMA y regímenes de fertilización). El análisis de los datos buscó el efecto en la regímenes de fertilización (RF), la inoculación con HMA y en la combinación de estos dos factores (RF*HMA) para las variables evaluadas, a través de modelo lineal general (GLM). El análisis de varianza mostró únicamente diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) entre la regímenes de fertilización 25 ppm con respecto a la 0 ppm. Las especies *Acaulospora mellea*, *Diversispora spurca* y *Glomus aggregatum* fueron las que aportaron el mayor desarrollo. Con los resultados de este estudio aseveramos las bondades endomicorrícicas nativas, reduciendo eficientemente en 50% la utilización excesiva de fertilizantes contaminantes del medio ambiente y que son utilizadas en la producción de planta de *Cedrela odorata* a nivel nacional. Además, estos hongos aportaron las características morfológicas principales para la calidad de planta capaz aumentar la sobrevivencia en áreas degradadas naturales y contribuir en el establecimiento de las comunidades vegetales nativas dentro de las restauraciones y/o plantaciones forestales comerciales implementadas en los trópicos mexicanos.

Palabras claves: Cedro rojo, HMA, simbiosis, régimen de fertilización, eficiencia micorrícica.

BIOLOGICAL EFFECTIVENESS OF NATIVE STRAINS OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI IN RED CEDAR (*Cedrela odorata* L.)

Emmanuel Fernandez Cruz

SUMMARY

Due to the importance of the symbiotic interaction of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) with plant species and the scarce information of the benefits offered by these fungi in tropical plant species of economic importance and forestry. This study was aimed to review the effects of some species of native mycorrhizal fungi associated with *Cedrela odorata* plants in the initial growth stage from Veracruz state. We used different fertilization rates represented in parts per million (RF: 0, 12.5, 25, 37.5 ppm) of a 07-07-17 mixed of fertilizer between 1 to 5 weeks after planting (ap), 20-7-19 in week 7 to 13 (ap) and 04-07-35 at week 14 to 18 (ap). The variables evaluated were: diameter, height, number of leaves each 20 days, whereas the dry weight of the stem and root as well as the rate of colonization were determined at 4 months after the experiment set, which was designed in randomized factorial arrangement based on two main factors (HMA and fertilization rates). The data analysis sought to effect fertilization rate (RF), inoculation with AMF and the combination of these two factors (RF * HMA) for the variables evaluated, through a general linear model (GLM). Analysis of variance showed only statistical differences ($p \leq 0.05$) between fertilization rates 25 ppm with respect to 0 ppm. *Acaulospora mellea*, *Glomus aggregatum*, and *Diversispora spurca* were the species that contributed most with the plant development. With the results of this study we assert the goodness of native endomycorrhizal reducing by 50% efficiently the excessive use of fertilizers environmental pollutants and that are used in the production of plants of *Cedrela odorata* in Mexico. In addition these fungi provided the main morphological characteristics of plant quality which can increase plant survival in degraded natural areas and contribute to the establishment of native plant communities in restoration and / or commercial forest plantations in the mexican tropics.

Keywords: red cedar, HMA, symbiosis, fertilization regime, mycorrhizal efficiency

ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. HIPÓTESIS GENERAL.....	2
3. OBJETIVO GENERAL.....	2
3.1. Objetivos específicos:	2
4. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
4.1. Las selvas	3
4.2. Generalidades de <i>C. odorata</i> y su importancia	4
4.3. La reforestación en ecosistemas tropicales y los HMA	6
4.4. Hongos micorrícicos arbusculares	7
4.4.1. Estructuras y pasos de la simbiosis micorrícica arbuscular	9
4.4.2. Factores perjudiciales para el proceso de la simbiosis micorrícica arbuscular en las planta.....	11
4.4.3. Beneficios entre micorrizas y su hospedero.....	11
4.5. Los HMA en la restauración de ecosistemas tropicales.....	14
4.6. Producción de planta tropical asociada con HMA destinada a la restauración de ecosistemas tropicales.	16
4.7. Producción de planta en viveros forestales y el manejo de HMA	17
4.7.1. El sustrato en la producción de planta forestal.....	17
4.7.2. Características del sustrato mezcla base utilizado por CONAFOR	18
4.8. Fertilización en la producción de planta forestal tropical nacional.....	19
4.9. Antecedentes del uso de HMA en plantas de <i>C. odorata</i>	20
5 MATERIALES Y MÉTODOS	22
5.1. Sitio experimental	22

5.2. Diseño experimental para evaluar la respuesta de plántulas <i>C. odorata</i> asociadas con HMA.....	23
5.3. Sustrato “mezcla base” en la producción de <i>C. odorata</i>	24
5.4. Inoculante micorrícico arbuscular.....	24
5.5. Regímenes de fertilización aplicadas a plántulas de <i>C. odorata</i> asociadas con HMA.	25
5.6. Establecimiento del experimento	26
5.7. Variables de estudio	27
5.8. Análisis estadístico.....	28
6. RESULTADOS.....	28
6.1. Respuesta de variables de crecimiento.....	28
6.2. Respuesta a la eficiencia de colonización de HMA en <i>C. odorata</i>	32
7. DISCUSIÓN	34
8. CONCLUSIÓN.....	39
9. LITERATURA CITADA	40
10. ANEXOS	50

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadros	Páginas
1 Componentes del sustrato empleado en la producción de planta forestal en los viveros de la CONAFOR.....	18
2 Propiedades Químicas por componentes del sustrato mezcla base.....	19
3 Propiedades Físicas por componente del sustrato mezcla base.....	19
4 Propiedades física y químicas del sustrato Mezcla base.....	19
5 Programa de fertilización para especies forestales tropicales CONAFOR.....	20
6 Diseño factorial para evaluar la respuesta de <i>C. odorata</i> inoculada con HMA bajo regímenes de fertilización.....	24
7 Mezcla base utilizada por CONAFOR.....	24
8 Especies micorrícicas de dos ecosistemas tropicales de Veracruz.....	25
9 Basada en el Programa de fertilización para especies forestales tropicales de CONAFOR (2003).....	25
10 Cálculos de la cantidad de fertilizante por formula, con base al nitrógeno.....	26
11 Resumen del análisis de varianza para variables de respuesta.....	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras		Páginas
1	Estructura morfológica de un árbol de <i>C. odorata</i>	5
2	Mapa de distribución de <i>C. odorata</i> L. en México: Tomado de Benítez <i>et al.</i> , (2004).....	6
3	Diagrama sinóptico de la clasificación de los hongos micorrícicos arbusculares. Tomado de Montaña <i>et al.</i> , 2008.....	8
4	Pasos en el desarrollo de micorrizas arbusculares. Tomado de Perniske (2008).....	10
5	Las vías apoplásticas y simplástica son caminos paralelos para la absorción de agua y nutrientes. Tomado de Tack y Meers (2010).....	10
6	Descripción general de diversos mecanismos (incluyendo procesos hipotéticos) que son mediados por las hifas e influyen en la formación de macroagregados y microagregados del suelo. Tomado de Rilling y Mummey (2006).....	13
7	Localización de la Facultad de Ciencias Forestales en Linares Nuevo León, México.....	23
8	Respuesta de variables de crecimiento bajo el régimen de fertilización a planta de <i>C. odorata</i> asociada con HMA. A: Altura. B: Diámetro. C: Número de hojas- en los niveles de cada factor. Niveles de factores con la mismas letras son estadísticamente iguales (Tukey $p \leq 0.05$).....	30
9	Peso seco aéreo de <i>C. odorata</i> por factor, al final del cultivo establecido dentro del laboratorio. A. peso seco foliar/área foliar. B. peso seco raíz. C. peso seco aéreo. La misma letra indica que son estadísticamente iguales según la prueba Tukey $p \leq 0.05$	32
10	Respuesta a la eficiencia en inoculación de HMA a plantas de <i>C. odorata</i> bajo regímenes de fertilización. A. porcentaje arbúsculos. B. porcentaje de vesículas. C. porcentaje de hifas. Niveles de factores con la mismas letras son estadísticamente iguales (Tukey $p \leq 0.05$).....	33
11	Comparación de la altura en plántulas inoculadas con HMA nativos de	

	la Selva alta (SA) y Selva mediana (SM) con la especie micorrícica (R.i) <i>Rhizophagus intraradices</i>	36
12	Comparación de la colonización de HMA nativos y (R.i) <i>Rhizophagus intraradices</i>	37
13	Laminilla para observación al microscopio del porcentaje de colonización micorrícica.....	50
14	Diagrama para el clareo y tinción de raíces colonizadas.....	51

1. INTRODUCCIÓN

El principal problema de bosques y selvas tropicales es la sobreexplotación de especies arbóreas consideradas preciosas (Martínez y García, 2007) por su calidad, durabilidad y color de la madera, como el cedro rojo (*Cedrela odorata*. L) el cual es una especie que aporta grandes beneficios económicos para la industria maderable (Bravo, 2007). Sin embargo el abasto de esta importante materia prima causa gran erosión al suelo por la extensa pérdida de cobertura vegetal. Además, el cambio de uso de suelo ejercido en las últimas décadas por el crecimiento demográfico y las plagas propician la degradación de los ecosistemas tropicales donde se encuentran las poblaciones de *C. odorata* con importancia ecológica y económica para los seres vivos, surgiendo la necesidad de restaurar dichas áreas mediante el establecimiento de plantaciones forestales conservacionistas y de aprovechamiento forestal comercial (de la Torre *et al.*, 2008). Las acciones de reforestación forzosamente requieren planta forestal capaz de adaptarse en áreas deforestadas generalmente con suelos pobres en nutrientes. Está demostrado que esta capacidad de adaptación la proporcionan ciertos microorganismos del suelo como los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) al interactuar simbióticamente con el sistema intra-radical de la mayoría de las plantas (Alarcón *et al.*, 2001). Algunas ventajas observadas en especies forestales son: la reducción en la utilización de fertilizantes sintéticos hasta en un 80% dentro de la producción de planta forestal en viveros (Guerra, 2008) y les pueden ayudar a mejorar la adaptabilidad al suelo hasta en un 54% bajo condiciones naturales debido a la simbiosis mutualista ejercida por estos microorganismos (Monroy *et al.*, 2007).

Investigaciones realizadas por Guadarrama *et al.*, (2004) y Amador (2010), integran herramientas biológicas (HMA) en la producción de plantas de especies tropicales preciosas en las cuales han demostrando las bondades endomicorrícicas reflejadas en las estructuras morfológicas de las plántulas para asegurar su establecimiento en campo; ellos han utilizado la especie micorrícica *Rhizophagus intraradices* que es comercializada para cultivos agrícolas principalmente, pero no han evaluado la asociación de la micobiota arbuscular nativa asociada a *C. odorata*. Las especies de HMA nativas identificadas por Méndez (2012), en dos ecosistemas tropicales del estado de Veracruz aportan beneficios para el sustento de las plantas de *C. odorata* producidas en viveros, sin embargo, hace falta evaluar la efectividad de éstas para obtener una cepa capaz de mejorar los sistemas de producción de plántula. Por estas razones fue importante en este estudio documentar la eficiencia de los HMA pertenecientes a la familias *Glomeraceae*, *Diversisporaceae* y *Acaulosporaceae* asociadas a plántulas de *C. odorata* a los 4 meses de edad, evaluando para ello el crecimiento, desarrollo y la factibilidad de reducir las dosis de fertilizante empleadas en la producción de planta a nivel nacional a través del uso de HMA.

El análisis experimental dio pauta para tomar decisiones en cuanto a la agrupación de especies de HMA, las cuales aportaron un beneficio máximo en el suministro de nutrimentos al interior de la raíz y determinó que la utilización de un consorcio de especies nativas en la producción de planta de *C. odorata* puede ser útil para alcanzar los índices de calidad de planta requeridos en los ecosistemas degradados (Santiago *et al.*, 2007) y proporcionar la capacidad de adaptación a un mayor rango de distribución de la especie, tanto en suelos fértiles muy húmedos como en suelos pobres en nutrientes y secos con los que cuenta el estado de Veracruz.

Lo anterior permitirá apoyar a los programas producción de planta destinada a reforestación, restauración y plantaciones forestales a mediano plazo de acuerdo a la política de desarrollo forestal sustentable para la cual trabajan las dependencias de gobierno como la CONAFOR a través del programa Pro-Árbol.

Con el fin de contribuir y fortalecer el uso de las herramientas biológicas para el estado de Veracruz, se planteó el presente estudio en el laboratorio de Micología de la Facultad de Ciencias Forestales (UANL). Con el que para abordar la problemática mencionada se estableció lo siguiente:

2. HIPÓTESIS GENERAL

Existen diferencias en el crecimiento inicial de *C. odorata* al utilizar especies de HMA procedentes de la selva mediana subperennifolia y selva alta perennifolia.

3. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la eficiencia de HMA nativos de dos ecosistemas tropicales del estado de Veracruz donde se distribuye *C. odorata*.

3.1. Objetivos específicos:

1. Evaluar la respuesta de especies nativas de HMA procedentes de dos ecosistemas tropicales en plántulas de *C. odorata*.
2. Determinar el régimen en concentración de fertilizante adecuado para la producción de planta de *C. odorata* asociada con HMA.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

Esta sección involucra los aspectos más importantes dentro de esta investigación, iniciando con la problemática a la extracción indiscriminada de especies forestales preciosas como *C.odorata*, de la cual se describe su morfología, usos, importancia, así como las acciones que se están manejando para remediar los daños causados a dichos ecosistemas tropicales actualmente perturbados, a través del estudio del funcionamiento y beneficios tanto de la especie arbórea en cuestión, como de las micorrícicas arbusculares (MA) las cuales desempeñan un papel importante a través de la asociación planta-hongo en la restauración de los ecosistemas tropicales degradados. De esta manera obtendremos un amplio panorama del contexto en la que se desenvuelve este estudio.

4.1. Las selvas

Desde los años setenta, Gómez-Pompa *et al.*, (1972) observaron que los bosques y selvas tropicales eran amenazados en su biodiversidad, al grado de la extinción de su flora y fauna, e incluso los mismos autores previeron la desaparición definitiva de las selvas si no se tomaban acciones que corrigieran la expansión agrícola descontrolada y, según la FAO (1975) la tala indiscriminada de los árboles a causado una grave y extensa erosión, sequías e inundaciones en las zonas tropicales. Según estimaciones de la FAO (1997), en México se perdió la selva húmeda a una tasa anual de 630,574 ha, solamente en el periodo de 1990 a 2000. Calculándose que al inicio del periodo había más de 55 millones de hectáreas. A esta tasa de deforestación estimada, se calcula la pérdida de la cobertura forestal a un ritmo acelerado de 1.1% de las selvas al año.

En la zona tropical húmeda de los estados de Veracruz, Tabasco, Oaxaca y Chiapas, el 13% de la superficie ha sido convertida a terrenos de cultivo y el 19% a terrenos pecuarios. La reducción neta de esta transformación es de 13 millones de ha, es decir, una disminución de 68% de la superficie original. Los datos indican que al final de la década de 1970 y principio de la década de 1980 se deforestó 40% de la superficie restante del trópico húmedo, dando como resultado en el trópico húmedo Veracruzano que la extensión original del territorio se dedique en 26.3% a actividades agrícolas, 30.9% a las actividades ganaderas y que 41.6% conserve la vegetación forestal natural (Toledo y Ordóñez, 1998 citados por Guevara *et al.*, 2004). En particular, el estado de Veracruz según INEGI (2011) consta de 7,182,039.6 ha de las cuales actualmente están distribuidas en 37.76% a la Agricultura, 44.98% a los pastizales, 1.99% en Bosques, 1.97% de Selva, .35% Matorral xerófilo. Esto da una idea de la distribución de las

actividades económicas del estado, posiblemente por falta de alternativas en el manejo de la tierra.

Actualmente, las selvas aún siguen siendo víctimas de la deforestación por causas como la explotación forestal indiscriminada y disgénica, cortando principalmente los mejores individuos de las poblaciones de árboles tropicales maderables considerados especies preciosas pertenecientes a la familia de las Meliáceas como (Caoba) *Swietenia macropylla* King y *C. odorata* las cuales son muy importantes económicamente para la industria maderera (Patiño, 1997; André *et al.*, 2008). Además, la degradación de los ecosistemas tropicales y áreas donde se distribuyen las poblaciones de *C. odorata* se debe a la apertura de campos de cultivo, potreros, el desarrollo de infraestructura urbana y de comunicaciones, como la construcción de carreteras, presas, caminos, explotación petrolera, viviendas, y desde luego los fenómenos naturales entre los cuales destacan los incendios, las inundaciones, los deslizamiento de tierra y los huracanes (Geist y Lambin, 2001; Patiño, 1997). Para impacto ecológico ejercido a través de los años, se necesita en la actualidad, la restauración de dichas áreas mediante el establecimiento de plantaciones forestales para la conservación y para el aprovechamiento forestal comercial (de la Torre *et al.*, 2008).

4.2. Generalidades de *C. odorata* y su importancia

C. odorata es un árbol de hasta 35 m de altura y de 1.7 m de diámetro a la altura del pecho; el tronco derecho forma a veces pequeños contrafuertes poco prominentes, ramas ascendentes y gruesas; de copa redondeada y densa su corteza externa ampliamente fisurada con las costillas escamosas (Figura 1), pardo grisácea a moreno rojiza; la capa interna rosada y cambia a pardo amarillenta, fibrosa y de sabor amarga; de un grosor total en la corteza de 20 mm (Pennington y Sarukhan, 2005).

Las hojas de esta especie son compuestas, alternas paripinnadas y grandes, hasta de 1m de largo. Peciolos de 8 a 10 mm de largo, delgados, foliolos 10 a 30 mm opuestos, oblicuamente lanceolados, comúnmente de 4.5 a 14 cm de largo y 2.0 a 4.5 cm de ancho. Patiño (1997), reporta que en México el periodo de floración para *C. odorata*, ocurre entre los meses de mayo y junio, principalmente en los estados de Guerrero, Veracruz y Oaxaca; aunque el mayor rango de floración y de fructificación se realiza en los meses de Marzo a Abril. Las flores son masculinas y femeninas en la misma inflorescencia de hasta 35 cm de largas, los pedicelos son de 1 a 2 mm de largo, tienen el cáliz esparcidamente pulverulento, los lóbulos agudos, pétalos oblongos de color crema verdoso de 5 a 6 mm de largo. Los frutos, son cápsulas con dehiscencia longitudinal septicida (se abre en cinco carpelos) presentan de 4 a 7 cm de largo; en estado inmaduro,

poseen un color verde y al madurar se tornan leñosos de color café oscuro con la superficie externa lenticelada y lisa; este fruto se desprende una vez liberadas las semillas, cada fruto tiene de 20 a 25 semillas pequeñas y alargadas miden 1.2 a 4.0cm de largo y entre 5 a 8mm de ancho, con la parte seminal hacia el ápice del fruto; la testa es de color castaño rojizo; el embrión es recto, comprimido, color blanco o crema y ocupa gran parte de la cavidad de la semilla; tiene dos cotiledones grandes, planos de acuerdo con Benítez *et al.*,(2004).



Figura 1.- Estructura morfológica de un árbol de *C. odorata*.

Se distribuye desde México (latitud 26° N) hasta el norte de Argentina (latitud 28° S), encontrándose también en las Islas del Caribe como Cuba, Isla de Pinos, Martinica, Antigua, las Antillas (Gutiérrez y Ricker, 2012; Pacheco y Brown, 2006). En México se encuentra desde la vertiente del Golfo en el sur de Tamaulipas y sureste de San Luis Potosí hasta la Península de Yucatán y en la vertiente del Pacífico desde Sinaloa hasta Guerrero y en la depresión central y costa de Chiapas (Figura 2). Por lo general crece en suelos fértiles, con buen drenaje, tanto en bosques tropicales como subtropicales secos y húmedos, y se presenta desde el nivel del mar hasta 1,200 msnm, conviviendo con especies del genero *Pinus* (Citron 2008; Patiño 1997; Pennington y Sarukhan, 2005). En Veracruz se encuentra en las inmediaciones de Cardel, Paso de Ovejas, Actopan, La

Gloria, Córdoba, Tezonapan, Catemaco, San Andrés Tuxtla, Acayucan, y Las Choapas (Niembro *et al.*, 2010).

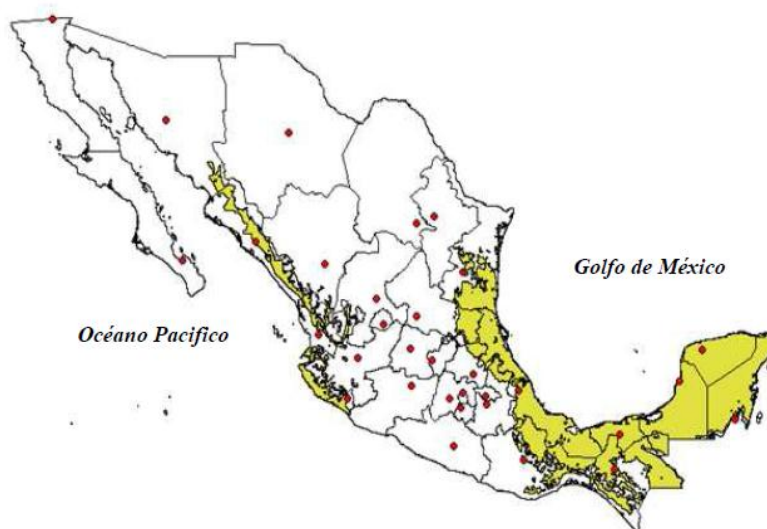


Figura 2. Mapa de distribución de *C. odorata* L. en México: Tomado de Benítez *et al.*, (2004).

Esta especie tiene una gran importancia económica debido a que es utilizada para la industria como materia prima en la elaboración de muebles finos, instrumentos musicales especialmente guitarras, chapas decorativas entre otros usos. Por estas razones Patiño (1997) asegura que esta especie ha sido aprovechada de una manera disgénica por el alto valor comercial, empobreciendo las áreas naturales de bosques y selvas en México y el extranjero. Desafortunadamente, en los últimos años, estos ecosistemas han sido impactados hasta en un 50% debido a las altas tasas de deforestación quedando solo relictos de poblaciones en sitios poco accesibles (Mas *et al.*, 2003; Velázquez *et al.*, 2001). La degradación de selvas está asociada principalmente a los cambios en el uso del suelo con fines para la agricultura (Martínez *et al.*, 2009). En estos suelos, existe una excesiva aplicación de fertilizantes inorgánicos que repercuten en el empobrecimiento a gran escala (Pimentel *et al.*, 2005). Otro de los factores que ha impactado a estas selvas, es la ampliación de pastizales para la ganadería, específicamente en estados del sureste Mexicano, donde más del 80% de su superficie en más de 30 años. Lo anterior ha propiciado una disminución de los contenidos de materia orgánica y de nitrógeno, cuyos componentes son esenciales para el desarrollo de las plantas (Salazar *et al.*, 2004).

4.3. La reforestación en ecosistemas tropicales y los HMA

La presión demográfica derivada de las actividades económicas ha sido evaluada por diversos autores como: Martínez y Ramírez (2001); Geist y Lambin (2001); Geist y

Lambin (2002); Hafich *et al.*, (2012); los cuales aseveran que es la causa de la creciente deforestación en las selvas tropicales, debido a la demanda de madera y productos no maderables. La problemática antes mencionada, confirma la necesidad de realizar plantaciones y elaborar programas de reforestación, los cuales, frecuentemente no han obtenido los resultados esperados por diferentes causas como: el ataque de plagas, baja fertilidad de los sitios de establecimiento y la falta de prácticas adecuadas de producción de plántulas en vivero, haciendo que existan bajas tasas de supervivencia y crecimiento en campo (Mexal *et al.*, 2002) . Dichas consecuencias son afirmadas puesto que a nivel nacional la supervivencia de plántulas en el campo Mexicano es de 55% según el V informe de gobierno (2011). El anterior porcentaje de sobrevivencia en campo es aplicable a las plantaciones o reforestaciones hechas con *C. odorata*, la especie forestal tropical más empleada para la reforestación y plantaciones comerciales en diversas regiones tropicales de México y otros países Latinoamericanos (Rodríguez *et al.*, 2011), cuyas maderas poseen un alto valor económico en mercados internacionales (Chapela, 2012).

El éxito de la supervivencia de plántulas en campo aumenta con el uso de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) hasta en 54% (Monrroy *et al.*, 2007) formando asociación simbiótica a través de las raíces secundarias de la mayoría de las plantas, esta asociación data de años prehistóricos (Bonfante y Genre, 2008), la cual ha evolucionado a través de los siglos para mejorar la aptitud de las especies vegetales y de los hongos simbioses (Johnson *et al.*, 1997), al grado de depender un organismo del otro, como la especie *Leucaena leucocephala* que es altamente dependiente de la micorrización (Brundrett *et al.*, 1994). Existen diversos trabajos que explican los beneficios de los HMA mejorando la productividad de la planta pero esto no siempre es el caso, puesto que también se consideran parásito sobre las plantas cuando el costo de la simbiosis supera los beneficios ofertados por el simbionte (Johnson *et al.*, 1997). Por esta razón se tienen que evaluar las posibilidades de integrar paquetes biotecnológicos como los HMA en la recuperación de ecosistemas tropicales degradados, empezando por los sistemas de producción de planta forestal en el país.

4.4. Hongos micorrícicos arbusculares

El vocablo micorriza formado etimológicamente del término griego “mykos” (hongo) y del vocablo latino “Rhiza” (raíz) fue presentado por primera ocasión por el botánico, patólogo y micólogo Alemán Albert Bernard Frank en 1885 para designar “la asociación que se producía entre las hifas de algunos hongos del suelo con los órganos subterráneos de la gran mayoría de las plantas superiores”. Según Alarcón *et al.*, (2001) dicha asociación es mutualista dados los beneficios que reporta la misma para ambos

participantes, y comprende la penetración radical por parte del hongo y la carencia de respuesta perjudicial hacia éste por parte de la planta hospedera. De acuerdo a Read (1999), las micorrizas (termino que se refiere a la asociación planta-hongo) se dividen en tres grupos fundamentales según la estructura de la micorriza formada: Ectomicorrizas o formadoras de manto; Ectendomicorrizas, que incluye Arbutoides y Monotropoides; y las Endomicorrizas, caracterizadas por la colonización intracelular del hongo, y que a su vez se subdividen en Ericoides, Orquidoides y Arbusculares; estos últimos formadores de las llamadas micorrizas arbusculares (HMA).

La primera evidencia inequívoca de HMA en una simbiosis endomicorrícica, trasciende de fósiles del periodo Devónico Inferior (Parniske, 2008) con más de 400 años de antigüedad, indicando que la transferencia de nutrientes es un fenómeno antiguo que pudo haber estado en existencia cuando las plantas invadieron la tierra (Taylor *et al.*, 1995). Así mismo, el hecho de que más del 90% de las plantas terrestres (fitobiontes) tengan uno o más de estos hongos asociados (micobiontes), muestra la eficiencia de esta asociación mutualista, su globalidad y la estrecha coevolución planta-hongo micorrícico, así como su relevancia en el reino vegetal (Montaño *et al.*, 2007). Con estos antecedentes nos damos cuenta que por más de 100 años se han estudiado los micobiontes asociados a las plantas.

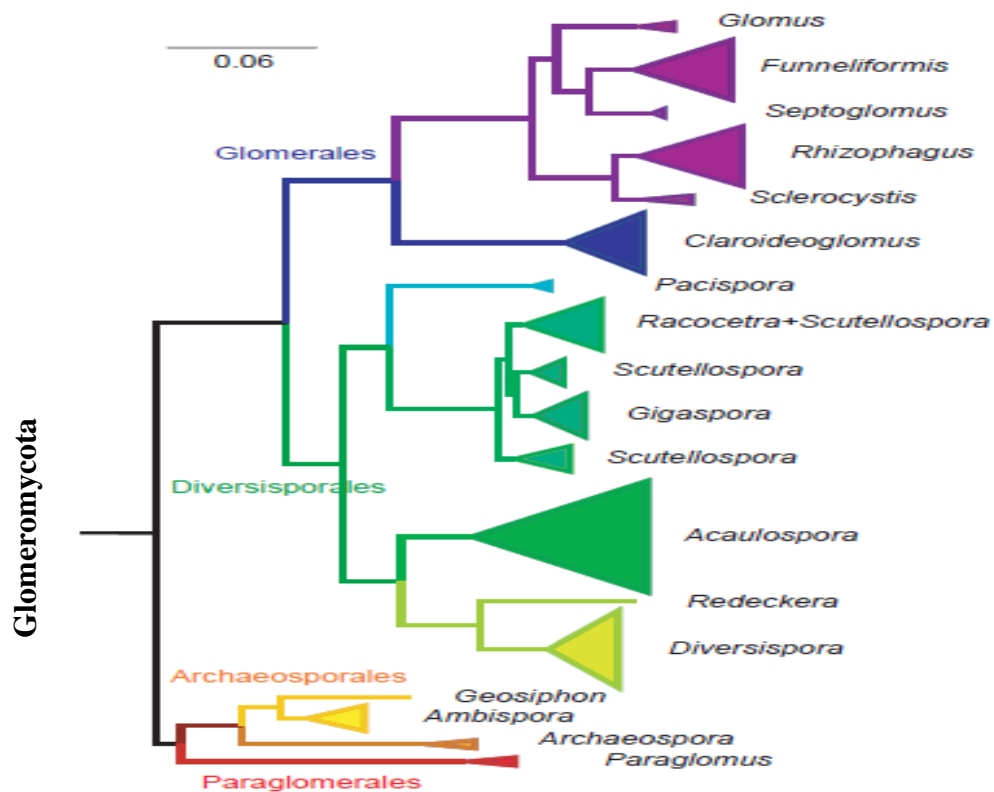


Figura 3.-Diagrama sinóptico de la clasificación de los hongos micorrícicos arbusculares. Tomado de Young (2012).

La endomicorizas se caracterizan por colonizar intracelularmente el córtex radical o sea que no hay manto externo que pueda verse a simple vista. Las hifas se introducen inicialmente entre las células de la raíz, pero luego penetran en el interior de éstas, formando vesículas alimenticias y arbusculos. Por ello este grupo se las conoce también como micorizas vesículo-arbusculares (MVA) los cuales constituyen la simbiosis más extendida sobre el planeta encontrándose colocados dentro del phylum monofilético, los Glomeromycota (Figura 3) (Parniske, 2008; Schüßler y Walker, 2010).

4.4.1. Estructuras y pasos de la simbiosis micorrícica arbuscular

Durante la simbiosis micorrícica según Parniske (2008) se desarrollan los siguientes procedimientos en las estructuras especializadas de los HMA (Figura 4):

1.- Esporas. Las esporas son el fruto del hongo que forman el principal fuente de inóculo (Méndez, 2012) las cuales, con las fitohormonas estrigolactonas exudadas de las raíces inducen o inhiben la germinación y la ramificación de las hifas, aumentando su actividad fisiológica (Giovanetti *et al.*, 1993).

2.- La identificación molecular de factores de señalización en hongos que inducen las respuestas específicas (en conjunto, llamados factores Myc) para la simbiosis micorrícica se hicieron evidentes en experimentos donde se detectó el gen *Enod11*-promotor GUS (b-glucuronidasa) el cual se activa en la proximidad de las hifas de los hongos. Este factor Myc se encontró que era una molécula difusible que en la activación transcripcional induce simbiosis de genes relacionados (Kosuta *et al.*, 2003). En este paso las moléculas difusibles liberadas por el hongo micorrícico son percibidas por las células de raíces de la planta hospedera a través de la señalización del calcio. (Novazio *et al.*, 2007).

3.- La formación de apresorios o hifopodios, es el contacto realizado después de la señalización entre hongo-planta, por las hifas maduras del hongo (Parniske, 2008).

4.- Como consecuencia de la química secuencial y la estimulación mecánica, las células vegetales producen un aparato de pre-penetración (PPA). Posteriormente, una hifa fúngica que se extiende desde el hifopodio entra en la PPA, la cual guía al hongo a través de células de la raíz hacia la corteza. Aquí, el hongo sale de la célula de la planta y entra en el apoplasto, donde se ramifica y crece lateralmente a lo largo del eje de la raíz. Estas hifas inducen el desarrollo de PPA como las estructuras internas de las células

corticales, para posteriormente pasar a estas células y formar arbusculos (Giovanetti *et al.*, 1993).

5.- El hongo se adentra en las células internas de la corteza donde se ramifica dicotómicamente en abundancia dando una forma de árbol, pudiendo llenar por completo el espacio de las células corticales, posiblemente buscando un gradiente de azúcar radial entre el tejido vascular y la capas exteriores de células que pueden estar involucrados en la introducción de las células del hongo y la formación de arbusculos. Los arbusculos se proponen para ser el lugar clave de intercambio bidireccional de carbono entre las células de las raíces y las hifas de hongos micorrícicos arbusculares (Blee y Anderson, 1998).

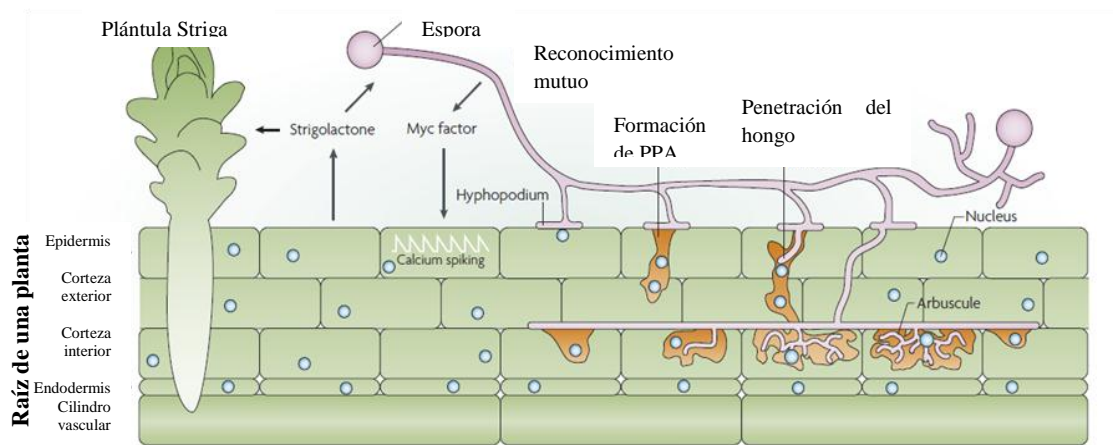


Figura 4.- Pasos en el desarrollo de micorrizas arbusculares (MA). Tomado de: Perniske (2008).

6.- Las vesículas, que se proponen para funcionar como órganos de almacenamiento de los hongos, son a veces, pero no siempre, formadas en MA y están presentes en el apoplasto (Figura 5). Nuevas esporas se sintetizan típicamente fuera de la raíz de la planta en el extremo delantero de las hifas fúngicas individuales (Perniske, 2008).

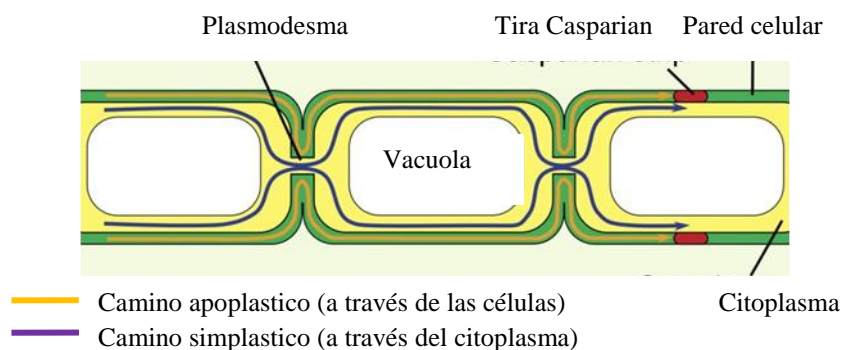


Figura 5.- Las vías apoplásticas y simplásticas son caminos paralelos para la absorción de agua y nutrientes. Tomado de: Tack y Meers (2010).

4.4.2. Factores perjudiciales para el proceso de la simbiosis micorrízica arbuscular en las planta

Los HMA son microorganismos obligados simbióticos del suelo que colonizan las raíces de la mayoría de las plantas (Moucheshi *et al.*, 2012) proporcionando a la planta huésped mayor capacidad para absorber agua y nutrientes del suelo; de manera reciproca la planta proporciona fuentes de carbono solubles al hongo. Sin embargo, existen condiciones adversas en los suelos naturales debido al constante cambio ambiental del suelo con respecto a la humedad, la temperatura, la disponibilidad de nutrientes, manipulación del suelo por las prácticas agrícolas. Con la intención de mejorar los suelos para el rendimiento de los cultivos se agregan productos químicos tóxicos para las plantas, afectando la función de los microorganismos simbioses micorrizógenos debido las condiciones edáficas modificadas tales como: la composición del suelo, la humedad, la temperatura, el pH, capacidad de intercambio catiónico, y también por factores estresantes antropogénicos incluyendo la compactación del suelo, metales y pesticidas (Entry *et al.*, 2002; Prasad *et al.*, 2011).

El fósforo en el suelo es el principal macronutriente para todos los organismos (Vance *et al.*, 2003) sin embargo en exceso limita la producción de propágulos infectivos de HMA según los resultados encontrados por Arriaga *et al.*, (2009). He aquí donde surge la necesidad de llevar a campo planta inoculada artificialmente, pues las perturbaciones afectan la cantidad de inóculo y especies nativas, las cuales siempre están en condiciones de estrés dentro de los ecosistemas tropicales degradados (Cuenca *et al.*, 2003; Ramos y Guadarrama, 2004)

4.4.3. Beneficios entre micorrizas y su hospedero

Los HMA son mutualistas por las transferencias de carbono orgánico (C) que la planta entrega al hongo y el fósforo (P) que se entrega en la dirección opuesta (Smith y Smith, 2012), formando el grupo de microorganismos generalista con mayor abundancia y responsables de la dependencia micotrófica del 90% de las plantas terrestres del planeta (Montaño *et al.*, 2007). Debido a la actividad del micelio externo del hongo se provee mayor capacidad de absorción de los nutrimentos del suelo mediante la red de hifas que el hongo pueda generar (Alarcón y Ferrera, 1999). Estas hifas extra radicales procedentes de los hongos tienen una mayor habilidad, comparado con las raíces, para explorar el suelo y tomar nutrimentos minerales que se difunden muy lento en la solución del suelo (Ramos y Guadarrama 2004).

Según Atleklett y Wallander (2012) a través de la utilización de HMA se optimiza la absorción de nutrientes como el nitrógeno (N), lo cual repercute en una mayor producción de biomasa y colonización de HMA en la planta. Salgado *et al.*, (2012) encontraron que la alta concentración de nitrógeno N inhibe dicha colonización por *R. intraradices* sin incrementar el crecimiento de la planta. El potasio (K) en concentraciones bajas es optimizado en la planta incrementando hasta un 26% el contenido de materia seca (Sarikhani y Aliasgharzad, 2012). El fósforo (P) es un macro nutriente importante para todos los organismos y sirve para múltiples funciones como elemento estructural clave en los ácidos nucleicos, fosfolípidos, enzimas y coenzimas. Está implicado en el metabolismo energético, la activación de intermediarios metabólicos y cascadas de transducción de señal. Por lo tanto, una fuente fiable de fósforo y el mantenimiento de fósforo celular en la homeostasis es esencial para la vida.

La velocidad de absorción de fosfato por las raíces en crecimiento es mucho más alta que la tasa de difusión suelo fosfato, lo que resulta en la formación de una zona de agotamiento en el nivel de sistema de la raíz y, en consecuencia, limita el suministro de fósforo a la planta. Los HMA optimizan el transporte de fosfatos al interior de la raíz (Karandashov y Bucher, 2005). El fosfato es probablemente transportado dentro del hongo como polifosfato (pólipo), y una vez en las hifas intra-radical de las cadenas largas están hidrolizadas, facilitando la transferencia de la planta huésped (Harrison y van Buuren, 1995; Ohtomo y Saito, 2005). El beneficio de la simbiosis es más visible cuando éstos se encuentran en suelos deficientes en fósforo; en esta condición, plantas inoculadas con HMA presentan mayores tasas de crecimiento (Alarcón y Ferrera, 1999) pues con la asimilación de otros elementos con poca movilidad edáfica como Cu, Zn, K, Ca, Fe y Mg (Flores y Cuenca, 2004; Hernández y Salas, 2009) y otros micronutrientes como Mo, B en cultivos u organismos vegetales mediante hifas extra radicales del hongo hacia el interior de la raíz, lo cual se ve reflejado en una mayor biomasa (Koide, 2006; Marín, 2005; Sánchez *et al.*, 2006). Los hongos micorrícicos puede desempeñar un papel importante en la protección de las plantas contra la contaminación de arsénico (As) (Chen *et al.*, 2007). En la producción de planta forestal las dosis de fertilizantes se pueden disminuir hasta en 50 u 80% con la utilización de HMA (Guerra 2008).

Las HMA se han estudiado como biocontrol de enfermedades de la raíz (Montaño *et al.*, 2007) principalmente en cultivos agrícolas como el jitomate donde según Gómez *et al.*, (2008) afirma que las plantas de jitomate aumentan su colonización por HMA en las raíces de la planta infectadas por el patógeno *Phytophthora capsici*, lo que puede deberse a la competencia por compuestos de carbono, lo que puede ser una de las causas de la reducción en el desarrollo del patógeno en plantas micorrizadas, ya que el crecimiento de ambos organismos simbioses y patógenos, depende de los fotosintatos disponibles en el hospedero. La pudrición de la raíz por *Fusarium oxysporum f. sp. asparagi* en plántulas de *Asparagus officinalis* fue disminuida en la plantas inoculadas

con HMA según Mohammad y Matsubara (2012). Algunos géneros micorrícicos arbusculares como *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus intraradices* y *Gigaspora rosea* colonizaron en diferentes niveles la raíz de las plantas de cebada sin embargo, todos los hongos micorrícicos arbusculares reduce claramente el nivel de las lesiones de la raíz debido al patógeno *Gaeumannomyces graminis*. Estos resultados obtenidos por Castellanos *et al.*, (2012) indican que algunos hongos micorrícicos arbusculares necesitan altas tasas de colonización de raíz para proteger a las plantas contra hongos patógenos, mientras que otros actúan en bajas tasas de colonización de raíces.

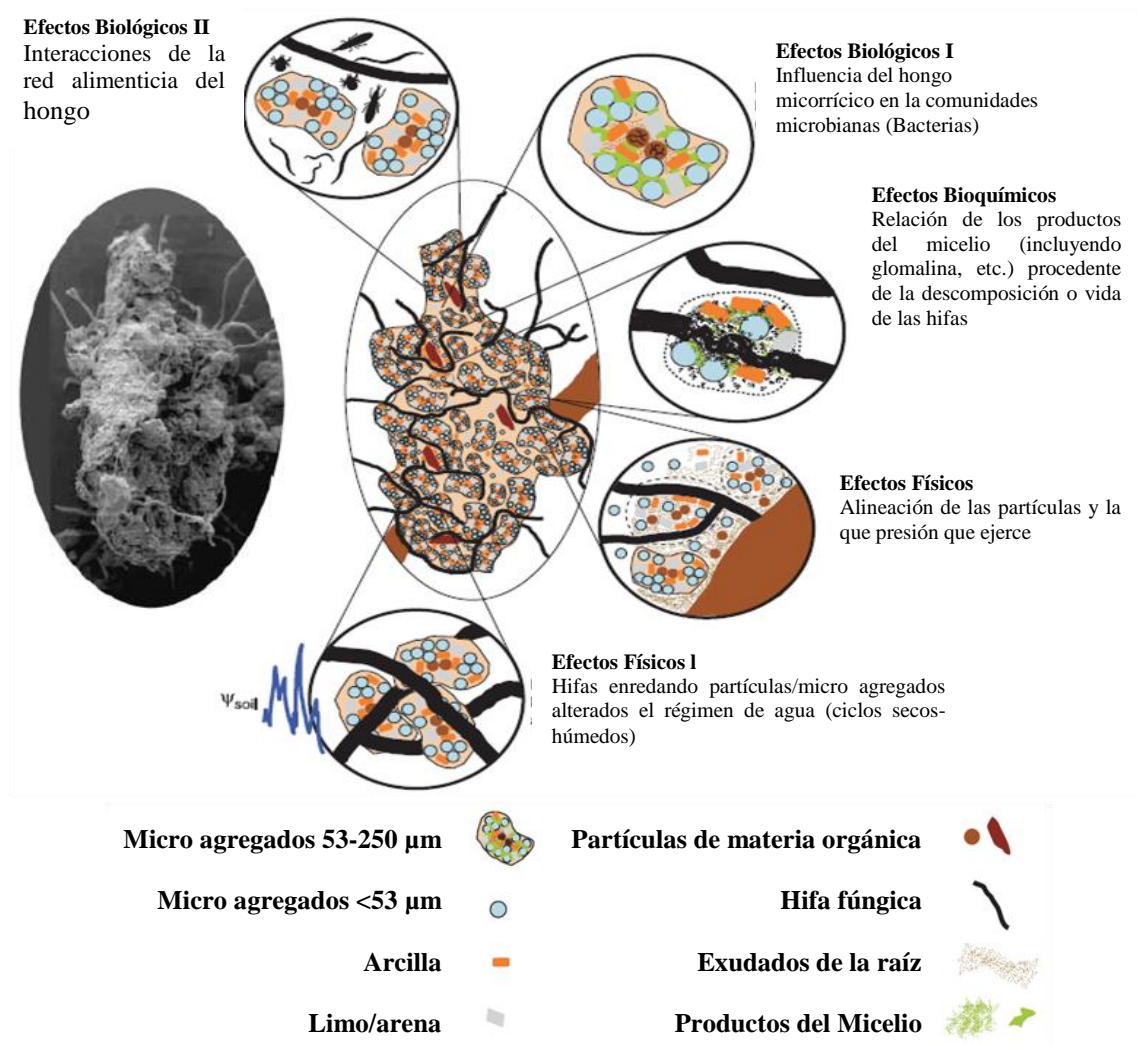


Figura 6.- Descripción general de diversos mecanismos (incluyendo procesos hipotéticos) que son mediados por las hifas e influyen en la formación de macroagregados y microagregados del suelo. Tomado de Rilling y Mummey (2006).

La simbiosis mutualista por HMA altera las relaciones hídricas, independientemente del estadio de la planta, siendo de gran valor ecológico ya que favorece el establecimiento, vigor, productividad y supervivencia de las plantas en un medio con condiciones

limitadas de agua (Ramos y Guadarrama, 2004) o el exceso de ella debido al cambio climático (Martínez, 2011). Otro factor ambiental es la salinidad del suelo excesiva que afecta a la creación, el desarrollo y crecimiento de las plantas, lo que resulta en importantes pérdidas en la productividad, sin embargo microorganismos como los HMA puede proteger a las plantas contra la salinidad, aliviando el estrés oxidativo inducido por la sal (Abdel y Chaoxing 2011; Ruiz *et al.*, 2012)

Una de las funciones más importante de los HMA se refleja en la fisiología y morfología de la planta huésped modificando la raíz, a través de la cual ayuda a la restauración del suelo a nivel ecosistema y mediante las hifas extra radicales que participan como el principal mecanismo para atrapar y enlazar jerárquicamente micro y macropartículas, debido a la producción y exudado de la proteína Glomalina. Los mecanismos en la estructuración del suelo se dividen en procesos físicos, bioquímicos y biológicos; así como sus interacciones resaltadas (Figura 6) (Riiling, 2004; Riiling y Mummey, 2006).

4.5. Los HMA en la restauración de ecosistemas tropicales

Existen algunos trabajos de restauración en los ecosistemas tropicales donde la principal herramienta es la utilización de hongos micorrícicos arbusculares asociados a plántulas de importancia económica en los trópicos. Los resultados obtenidos muestran los beneficios ecofisiológicos de la inoculación con estos hongos en diferentes especies leñosas vegetales.

Conocer la respuesta de cuatro especies forestales tropicales de Costa Rica a la aplicación del *Rhizophagus fasciculatum* en vivero y campo fue el objetivo de Hernández y Salas (2009). En la fase de vivero se evaluó el diámetro basal, altura total, peso seco del follaje y radicular, absorción de nutrimentos en el follaje y el sistema radicular. En campo se cuantificó altura total, diámetro, y absorción de nutrimentos en el follaje. Los resultados mostraron mayores incrementos promedio en todos los tratamientos inoculados (ronrón, *Astronium graveolens*, la teca, *Tectona grandis* y el amarillón, *Terminalia amazonia*) así como en la absorción de nutrimentos como el Mg, Cu, Zn, Mn y Fe, tanto en el follaje como en el sistema radicular.

En la reserva de la biosfera de Chamela-Cuixmala en México fueron inoculadas en vivero seis especies tropicales con especies micorrícicas procedentes del sitio destinado a la reforestación donde Huante *et al.*, (2012) después de un año de evaluación determino que las especies involucradas en el experimento difieren en su capacidad para beneficiarse de los HMA y la mayor capacidad de respuesta en altura de la planta y la producción de hojas fue exhibido por las especies de crecimiento lento *Swietenia*

humilis, *Latiflora Hintonia* y *Cordia alliodora*. Al final de la temporada de crecimiento (noviembre), la altura de las plantas de las especies de crecimiento rápido *Tabebuia donnel-smithii*, *Ceiba pentandra* y *Guazuma ulmifolia* no fueron influenciados por HMA. Sin embargo, los inóculos de HMA aumentaron la producción de hojas de todas las especies vegetales, independientemente de las características funcionales de las especies, lo que sugiere un mejor aprovechamiento del espacio sobre el suelo y la generación de un ambiente limitado luz bajo el dosel, lo que contribuyó a la supresión de pastos. La inoculación de las plántulas sembradas en áreas de pastizales abandonados se recomienda para la restauración ecológica debido a la alta capacidad de respuesta de crecimiento de las plántulas en la mayoría de las especies.

En Los Tuxtlas, Veracruz Álvarez *et al.*, (2007) analizaron el efecto de los hongos micorrícicos arbusculares sobre el crecimiento y la supervivencia de dos especies plántulas (*Piper auritum* y *Rollinia jimenezzi*) en la primera etapa en invernadero donde el factor de micorrización produjo diferencias significativas en el peso seco foliar y proporción del área foliar, posteriormente fueron trasplantadas en áreas degradadas derivadas de las selva tropical húmeda destacándose las plantas micorrizadas con diferencias significativas en tres de las variables dasométricas de la planta y aumento la sobrevivencia de las mismas en campo. Se determinó que la utilización de diferentes gremios tiene mayores posibilidades de éxito en la restauración debido a las respuestas ecofisiológicas diferentes de acuerdo a las condiciones ambientales.

Los trabajos realizados en las selvas se enfocan a la restauración ecológica la cual se define como “la recuperación de un ecosistema que ha sido perturbado, degradado o destruido tomando en cuenta la biodiversidad y procesos ecológicos haciendo énfasis en la sucesión para tratar de reproducir un ecosistema igual al perdido”, de esta manera se trata de establecer una comunidad vegetal que contemple las especies de los diferentes estadios sucesionales junto con especies que hayan permanecido después de los disturbios. El suelo es un factor determinante en la restauración pues requiere del desarrollo de una vegetación nativa (Martínez y García, 2007) para construir un ecosistema lo más parecido al que anteriormente existió (Bradshaw, 1997; Hanselwandter, 1997 citados por Álvarez *et al.*, 2007). Los HMA colonizan una gran variedad de especies vegetales, sin embargo, se sabe que la magnitud de los beneficios que aportan estos simbiontes a su hospedero depende directamente de la preferencia entre colonizador simbionte-huésped planta y viceversa, determinando el éxito ecológico de ambas especies, así como la estructura de la comunidad fúngica y vegetal en el ecosistema (van der Heijden, 1998).

En las selvas los HMA forman simbiosis micorrícica con la mayoría de las especies vegetales (Álvarez *et al.*, 2007) ayudando principalmente en la adquisición de los nutrientes y agua (Smith y Smith, 2012). Por estos resultados observados se puede

determinar que, la utilización de HMA en la producción de plántulas aportan un establecimiento y crecimiento vegetativo exitoso (Ramos y Guadarrama, 2004) determinando el rumbo de las comunidades vegetales y micro fúngicas en la sucesión ecológica (Aziz *et al.*, 1995).

4.6. Producción de planta tropical asociada con HMA destinada a la restauración de ecosistemas tropicales.

El éxito del establecimiento de las plantas en ecosistemas tropicales degradados depende la interacción con microorganismos del suelo. Se sabe que los microorganismos que destacan en los suelos tropicales son hongos micorrícicos arbusculares (Alexander y Lee, 2005). La simbiosis mutualista entre planta y hongo ha sido estudiada ampliamente, sin embargo no han sido aplicadas por los programas de reforestación y restauración a suelos degradados tropicales, posiblemente por la dificultad para ser manipulados y producirlos a gran escala (Chanway *et al.* 1991 citado por Ramos y Guadarrama, 2004).

En México, los esfuerzos para alcanzar la sustentabilidad se limitan a la producción de biofertilizante de índole agrícola, como lo hace la compañía Mexicana Biosustenta que inauguró la segunda mayor planta de biofertilizante “in vitro” del mundo en el estado de Michoacán, especializada en la producción de hongos micorrícicos y bacterias promotoras del crecimiento vegetal, donde se producen especies con eficiencia comprobada en la colonización y los beneficios en plantas de importancia agrícola (SAGARPA, 2012) dejando de lado la producción de inóculo para especies forestales lo que repercute en una nula utilización de estos hongos en programas de restauración con planta forestal tropical a gran escala (Ramos y Guadarrama, 2004). Los estudios para la producción de especies nativas son escasos, a pesar que deberían ser la prioridad en la producción de biofertilizantes ya que se asegura el éxito en el desarrollo de la asociación y con ello el mejor desarrollo de las especies vegetales. (Urgiles *et al.*, 2008). Lograr esto, implica un conocimiento básico de la riqueza y abundancia de especies de hongos micorrizógenos presentes en las selvas de Veracruz y de sus efectos sobre las posibles plantas hospederas (Méndez, 2012). Es indudable que falta información para el manejo y producción de inoculantes de hongos micorrizógenos, pero es imprescindible tomar en cuenta la importancia de esta asociación en programas de manejo de ecosistemas naturales, como son la repoblación y restauración de ambientes tropicales deteriorados (Ramos y Guadarrama, 2004).

El trabajo de Méndez, (2012) proporciona la base para el manejo de hongos micorrizógenos nativos propios de *C. odorata* reflejando la alta diversidad micorrícica presente dentro de los ecosistemas tropicales del estado de Veracruz, la cual es

indispensable para entender la interacción planta-microorganismo y con ello la función que cumple en el manejo, conservación y propagación de especies forestales en áreas con algún disturbio. El mismo autor asegura que existe una fuerte relación micorrícica entre estos hongos y *C. odorata*; ante ello, sugiere replicar estos hongos para utilizarlos en la producción de plántulas, a fin de lograr una mejor adaptación al establecerlas en condiciones naturales.

4.7. Producción de planta en viveros forestales y el manejo de HMA

En el 2007 los viveros del país produjeron 186.3 millones de plántulas para el programa Pro-Árbol, de las cuales 23.7 millones de plántulas (12.7%) fueron de *C. odorata*, Veracruz fue uno de los estados más apoyados para reforestaciones ese año según el Informe para la Auditoría Superior de la Federación (2009). La Numeralia Histórica del Anuario Estadístico de Veracruz Ignacio de la Llave del 2011 (SEFIPLAN, 2011) indica que la demanda de planta forestal aumento más de 2.3 veces con respecto al año 2010. Dicha demanda es abastecida por 65 viveros reconocidos oficialmente por la CONAFOR según INEGI, (2011) de los cuales se pueden detectar 26 viveros en distintos municipios del estado que producen plantas comunes tropicales, sin embargo es probable, según el estudio realizado por Rodríguez en el 2010 que solo 12 viveros del estado de Veracruz, también produzcan plántulas de *C. odorata*, dicho por la especialidad de estos en la producción de planta de *Swietenia macrophylla*, cinco vinculados a la Secretaría de Desarrollo Agropecuario Rural Forestal y Pesca (SEDARPA) y siete a la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). Logrando una producción aproximada en el 2011 de 6 millones 953 mil plantas de *C. odorata* para todo el estado de Veracruz (SEFIPLAN, 2008; SEFIPLAN, 2011) destinadas a la reforestación y/o las plantaciones forestales comerciales.

4.7.1. El sustrato en la producción de planta forestal

El sustrato es el soporte físico para el cultivo de las plantas en contenedor. Este término se aplica en la producción de planta en vivero, se refiere a todo material sólido diferente del suelo que puede ser natural o sintético, mineral u orgánico y que colocado en un contenedor, de forma pura o mezclada, permite el anclaje de las plantas a través de un sistema radical. (Pastor, 1999)

Las funciones más importantes de un sustrato en la producción de plántulas son el proveer el agua suficiente a la semilla y posteriormente a la plántula, al mismo tiempo suministrar los nutrimentos necesarios para el buen desarrollo y crecimiento, permitiendo el buen intercambio gaseoso entre la atmósfera y el sustrato (Rodríguez *et al.*, 2010; Berrospe *et al.*, 2012).

En el estado de Veracruz el 58 % de los viveros forestales pertenecen a CONAFOR y utilizan la denominada “Mezcla base” (Cuadro 1) compuesta por Peat moss, Vermiculita y Agrolita, pues es la mezcla que mejores resultados a presentado según los reportes de los viveros forestales militares de Sayula y Jamay Jalisco, además de su fácil trabajo y prevención de patógenos como el *Fusarium sp.* causante del Damping-off (Rodríguez, 2010; Aldama y Aguilera, 2003).

Cuadro 1.- Componentes del sustrato empleado en la producción de planta forestal en los viveros de la CONAFOR.

Material	Mezcla base
Peat moss	61%
Vermiculita (grado medio)	21%
Agrolita	18%
Osmocote® (17-7-12)*	4.73 gr/litro de mezcla base

*Concentración del fertilizante de liberación controlada.

Según Zamora *et al.*, (2005) la mezcla de Peat moss y Agrolita cuentan con las características físicas y químicas de cada componente (Cuadro 2,3) ideales para la producción en contenedores de cualquier tipo de planta debido a las condiciones de aireación, espacios porosos, cantidad de materia orgánica y el volumen de agua disponibles una vez mezclados de acuerdo a las proporciones requeridas para la especie vegetal a cultivar (Cuadro 4).

4.7.2. Características del sustrato mezcla base utilizado por CONAFOR

La mezcla base es la combinación del sustratos químicamente inertes y activos; los sustratos químicamente inertes actúan como soporte de la planta, no interviniendo en el proceso de adsorción y fijación de los nutrientes, por lo que han de ser suministrados mediante la solución fertilizante. Los sustratos químicamente activos sirven de soporte a la planta pero a su vez actúan como depósito de reserva de los nutrientes aportados mediante la fertilización almacenándolos o cediéndolos según las exigencias del vegetal (Toledo, 2006). Posee una elevada capacidad de intercambio catiónico, favoreciendo un mejor aprovechamiento de los fertilizantes, pH óptimo, conductividad eléctrica idónea, evitando problemas de salinidad (AGROLITA).

Actualmente según Rodríguez *et al.*, (2010) en viveros con un mayor nivel de tecnificación se utilizan mezclas de sustratos artificiales como vermiculita, agrolita y peat-moss en sustitución de suelo forestal debido a la facilidad de operación y prevención de los patógenos. Sin embargo, estos sustratos carecen de propágulos micorrícicos y de nutrientes esenciales para el funcionamiento de la simbiosis.

Adicionalmente cuando estos sustratos son usados para la preparación de inóculos micorrícicos su efecto en la colonización de las raíces es aún contradictorio y ha sido poco estudiado (Corkidi *et al.*, 2004).

Cuadro 2.- Propiedades Químicas por componentes del sustrato mezcla base.

Sustrato	pH	CE	MO	Ca	Mg	K	P	CIC
Peat-moss	4.50	2.29	93.88	22.0	40.11	131.77	4.30	-
Agrolita	8.05	0.11	-	16.6	10.09	1.56	0.11	-
Vermiculita*	7-7.2	-	-	1.46	23.37	2.46	>.43	80-120 meq/l

Tomado de Zamora *et al.*, (2005) y *Tomado de (Agrolita 2). Componentes del cuadro, pH: potencial hidrómico, CE: conductividad eléctrica, MO: materia orgánica, CIC: coeficiente de intercambio catiónico.

Cuadro 3.-Propiedades Físicas por componente del sustrato mezcla base.

Sustrato	Densidad (gr.cm ³)			AR%	CA%	EPT%	MS%
	Aparente	Real	Porosidad%				
Peat-moss	0.11	1.56	93	13.46	4.21	92.95	7.05
Agrolita	0.18	1.03	82	14.28	27.10	82.52	17.48
Vermiculita*	90- 140kg/m ³	.100- .118	-	350 litros/m ³	-	-	-

Tomado de Zamora *et al.*, (2005) y *Tamado de Toledo, (2006). Componentes del cuadro AR: agua retenida, CA: capacidad de aireación. EPT: espacio poroso total, MS: material solido.

Cuadro 4.- Propiedades física y químicas del sustrato Mezcla base

Propiedades Físicas	
Densidad	.09 g/cm ³
Porosidad	70-75 %
Retención de Humedad	45%
Propiedades Químicas	
pH	5.1-6.1
CE	.87 ds/m
CIC	73-79 meq/100gr

Tomado de AGROLITA (1), Componentes de cuadro pH: potencial hidrómico, CE: conductividad eléctrica, CIC: coeficiente de intercambio catiónico.

4.8. Fertilización en la producción de planta forestal tropical nacional

La producción de planta en los viveros oficiales en contenedores que utilizan como medio de crecimiento sustratos inertes los cuales no aportan nutrientes a las plantas, se hace fundamental la práctica de fertilización para el cultivo (Aldama y Aguilera, 2003). El siguiente Cuadro (5) muestra las fertilizantes empleados en la producción de planta, los cuales tienen un alto porcentaje de (P) fósforo en la fase de desarrollo inicial y de endurecimiento, seguramente porque es un nutriente esencial para el crecimiento de las plantas (Harrison y van Buuren, 1995). Sin embargo, en la producción de planta forestal micorrizada es necesario reducir el porcentaje de P en las fórmulas de fertilizantes utilizadas, ya que a mayor concentración de P disminuye el porcentaje de colonización de HMA (Lucas, 2011).

Cuadro 5- Programa de fertilización para especies forestales tropicales CONAFOR

Fase de desarrollo	Etapa de Aplicación	Duración (semanas)	Fertilizante (Fórmula)	Concentración Recomendada de N (ppm)	Gr/Litro Sin dosificador	Fertilizante para diferentes cantidades de solución (Kg)		
						10 L	20 L	30 L
Germinación	1	1-3	Sin fertilizante					
Crecimiento inicial	1	4-6	7-40-17	25	0.35	.35	.714	1.071
Crecimiento rápido	1	7-10	20-7-19	50	0.25	.250	.500	.750
Endurecimiento	1	11-16	4-25-35	50	1.25	1.250	2.500	3.750
lignificación	2	14-16	Sin fertilizante			0	0	0

Tomado de Aldama y Aguilera, (2003).

Los HMA son capaces de optimizar la absorción de P del suelo debido a los cambios bioquímicos de la raíz efectuados por el hongo (estos cambios son explicados en el subtema 4.4.3) (Vance *et al.*, 2003). Por estos motivos Miyasaka *et al.*, (2003) recomienda en la producción de inóculo micorrízico arbuscular, aplicaciones de fertilizantes que contengan de 5 a 6 % de P.

4.9. Antecedentes del uso de HMA en plantas de *C. odorata*

En el bosque tropical húmedo de Dantas, Huánuco, Perú se evaluó la presencia de hongos micorrizicos en asociación simbiótica con las especies *C. odorata*, *Copaifera reticulata* y *Cedrelinga catenaeformis* para determinar el tipo de micorriza, registrar y cuantificar los propágulos de micorrizas versículo arbusculares en el suelo, así como cuantificar la infección micorrízica en las raíces de las especies estudiadas. *C. odorata* y

Cedrelinga catenaeiformis presentaron HMA y *Copaifera reticulata* presentó HMA e indicios de micorriza ectotrófica (ME); se hallaron nódulos fijadores de nitrógeno en *Cedrelinga catenaeiformis*. El potencial de inóculo de HMA en el bosque de Dantas fue alto. Se apreció una relación inversa entre el número de propágulos y las condiciones edáficas del bosque. (Mecinas *et al.*, 1991).

Se estudiaron las relaciones entre las plantas y micorrizas arbusculares (MA) la diversidad de hongos, y sus efectos sobre la función del ecosistema, en una serie de réplicas de parcelas forestales tropicales en la Estación Biológica La Selva, Costa Rica. En dichas parcelas tenemos los monocultivos replicados de cada una de las tres especies de árboles de importancia comercial: *C. odorata* L. (Meliaceae), *Cordia alliodora* (R & P) Cham. (Boraginaceae); *Hyeronima alchorneoides* Allemão (Euphorbiaceae). Las parcelas tenían 12 años de edad y eran monocultivos de tres especies de árboles o policultivos de las especies de árboles con dos especies de sotobosque adicionales. El índice de diversidad de Shannon de la comunidad de esporas de HMA marco diferencias significativas entre las tres especies de árboles, pero no fue significativamente diferente entre parcelas de monocultivo y policultivo. La comunidad de especies de HMA se conformo por 16 morfo especies, sin embargo las especies que mayormente componen la comunidad son *Acaulaspora morrowiae*, *A. scrobiculata*, *A. spinosa*, *A. mellea*, *P. 'occultum-like'*, and *G. 'etunicatum/geosporum-like'* representando el 90% de las esporas de la comunidad (Lovelock y Ewel, 2005).

En el Campo Experimental El Palmar, INIFAP, ubicado en Tezonapa, Ver. Se evaluaron tres métodos de inoculación de micorriza (*R. intraradices*) en la producción de plantas de *C. odorata* en contenedor de 310 ml, donde se estableció un diseño experimental completamente al azar con 4 tratamientos: T1 inoculación en sustrato; T2 inoculación en riego; T3 inoculación en semilla y T4 testigo. Las mediciones se realizaron cada 15 días evaluando las variables altura, número de hojas y diámetro del tallo. Al final del experimento se midieron peso fresco y seco de raíz y tallo, número de esporas, colonización micorrícica y se obtuvo la eficiencia del simbionte mediante el índice de calidad de las plántulas. De acuerdo a los resultados el tratamiento que promovió mayor interacción micorrícica fue el de inoculación en semilla, incrementando el desarrollo de las plantas de *C. odorata*, además la asociación de *G. intraradices* con *C. odorata* indica una dependencia micorrícica alta; y mediante la inoculación con micorrizas se mejora la absorción de nutrimentos por parte de la planta promoviendo un mayor desarrollo en menor tiempo reduciendo su estancia en el vivero (Amador, 2010).

Rodríguez *et al.*, (2011) en el análisis de los hongos micorrícicos arbusculares y su implicación en la producción y manejo de especies neotropicales forestales concluye que en el establecimiento de plantaciones forestales comerciales y reforestación con especies de maderas preciosas como las meliáceas para satisfacer la demanda creciente de

madera, deben incluirse los HMA como un factor obligado para incrementar los contenidos nutrimentales de las plantas y por lo tanto mejorar su crecimiento y producción, disminuyendo el tiempo de las primeras etapas de crecimiento de *C. odorata* en las que es susceptible al ataque de la principal plaga “el gusano barrenador” (*Hypsipylla grandella* Z.). Esto implicaría hacer modificaciones en las prácticas comunes de los sistemas de producción de planta de los viveros, que pudieran resultar perjudiciales al establecimiento y funcionamiento de la simbiosis afectando la relación costo-beneficio del mantenimiento de la simbiosis.

Dentro de un invernadero se evaluó el efecto de los hongos micorrícicos arbusculares en el desarrollo inicial de *C. odorata*; por ello, se realizó un bioensayo utilizando diferentes fuentes de inóculos procedentes de dos ecosistemas tropicales donde se distribuye esta especie en el estado de Veracruz. Se establecieron cuatro tratamientos: 1, inoculación directa con un consorcio de esporas; 2, inoculación con raíces colonizadas provenientes de campo; 3, sin inoculación; 4, sin inoculación en suelo nativo no estéril (T1, T2 y T3 en suelo nativo esterilizado). Los resultados mostraron diferencias estadísticas en los parámetros de crecimiento de los inoculantes provenientes de selva mediana subperennifolia, en donde T4 arrojó los mejores resultados. Lo que demuestra una alta relación micorrícica entre *C. odorata* y los HMA, principalmente con *Acaulospora mellea* que muestra la mayor frecuencia relativa dentro del ecosistemas de la selva alta y *G. aggregatum* dentro de la selva mediana, además el uso de herramientas moleculares reafirmo principalmente la presencia estas especies de hongos en el interior de raíces de *C. odorata* (Méndez, 2012).

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Sitio experimental

El presente estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Micología de la Facultad de Ciencias Forestales (FCF) perteneciente a la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) en Linares, Nuevo León, México, (Figura 7) para evitar las inclemencias del tiempo y poder controlar la temperatura; ya que en Linares las heladas de invierno son extremas de hasta -8 °C presentadas entre los meses de noviembre a febrero seguidas por temperaturas extremadamente cálidas de hasta 45°C en primavera-verano, oscilando la temperatura media anual entre los 12 y 18 °C. Debido a estos factores climatológicos fue necesario establecer el experimento entre los meses de marzo a agosto por ser el

intervalo de tiempo más cálido y benéfico para la adecuada propagación de HMA en cultivos trampa y la eficiencia de estos hongos en el crecimiento de *C. odorata*.

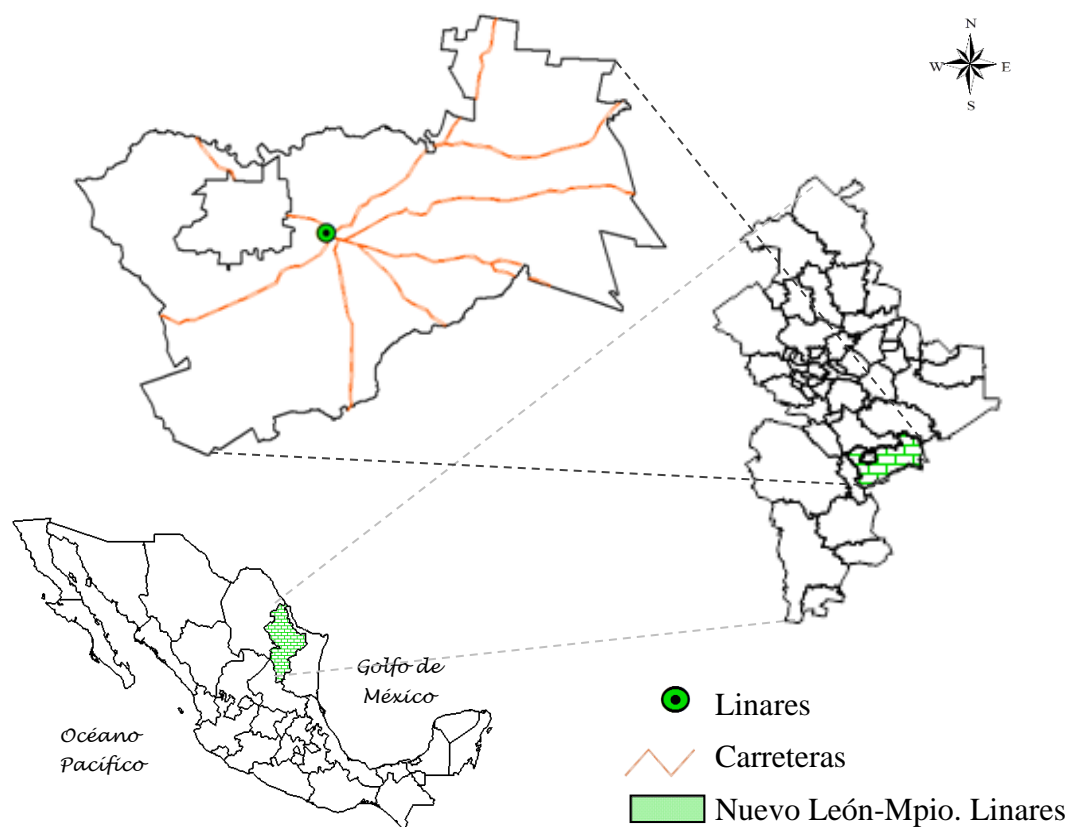


Figura 7.- Localización de la Facultad de Ciencias Forestales en Linares Nuevo León, México.

5.2. Diseño experimental para evaluar la respuesta de plántulas *C. odorata* asociadas con HMA

Con base al sistema de producción de planta en contenedor de la CONAFOR, en el cual se emplean diferentes dosis de fertilizante (RF) aplicados de acuerdo a cada etapa de crecimiento de las plántulas para las especies tropicales (Cuadro 9) y, a las ventajas de la simbiosis mutualista proporcionada por los HMA. Se diseñó el experimento incluyendo los dos factores mencionados (RF y HMA), integrados por diferentes niveles en cada factor; El primer factor (A) HMA nativos lo integraron (7 niveles) 2 especies de la selva mediana y 2 especies de la selva alta, 2 consorcios extraídos del suelo nativo más 1 testigo sin inoculante y el segundo factor (B) RF lo conformó 4 niveles en parte por millón: 0, 12.5, 25 y 37.5 ppm de los fertilizantes empleados en las etapas de crecimiento (el nivel 25 ppm es el más recomendado por la CONAFOR) dentro de la producción de planta tropical a nivel nacional. De esta manera son posibles 28

combinaciones de tratamiento (Cuadro 6) con 6 repeticiones, dando un total de 168 contenedores de evaluación para un diseño factorial aleatorizado.

Cuadro 6.- Diseño factorial para evaluar la respuesta de *C. odorata* inoculada con HMA bajo regímenes de fertilización.

Fertilizante ppm. (A)	Hongos Micorrizicos Arbusculares (B)						Testigo
	Selva Alta			Selva Media			
	(B ₁) <i>Acuaulospora mellea</i>	(B ₂) <i>Rhizophagus custos</i>	(B ³) Consortio SA	(B ₄) <i>Glomus agragatum</i>	(B ₅) <i>Diversispora spurca</i>	(B ₆) Consortio SM	
0 (A ₁)	(A ₁ B ₁)	(A ₁ B ₂)	(A ₁ B ₃)	(A ₁ B ₄)	(A ₁ B ₅)	(A ₁ B ₆)	(A ₁ B ₇)
12.5 (A ₂)	(A ₂ B ₁)	(A ₂ B ₂)	(A ₂ B ₃)	(A ₂ B ₄)	(A ₂ B ₅)	(A ₂ B ₆)	(A ₂ B ₇)
25 (A ₃)	(A ₃ B ₁)	(A ₃ B ₂)	(A ₃ B ₃)	(A ₃ B ₄)	(A ₃ B ₅)	(A ₃ B ₆)	(A ₃ B ₇)
37.5 (A ₄)	(A ₄ B ₁)	(A ₄ B ₂)	(A ₄ B ₃)	(A ₄ B ₄)	(A ₄ B ₅)	(A ₄ B ₆)	(A ₄ B ₇)

Cada combinación (A_nB_n) fue repetida 6 veces.

5.3. Sustrato “mezcla base” en la producción de *C. odorata*

La CONAFOR desde que inició de manera intensiva la producción de planta en contenedores, ha utilizado un sustrato “artificial” a base de peat-moss, vermiculita y agrolita denominado “mezcla base” (Cuadro 7) que se ha estandarizado para la producción de planta en contenedor y corresponde a las proporciones que mejores resultados han dado en los Viveros Forestales Militares de Sayula, y Jamay, Jalisco.

Cuadro 7.- Mezcla base utilizada por CONAFOR.

Material	Mezcla base
Peat moss	61%
Vermiculita (grado medio)	21%
Agrolita	18%
Osmocote® (17-7-12)	4.73 gr/ litro de MB

Tomado de Aldama y Aguilera, (2003)

5.4. Inoculante micorrízico arbuscular

La inoculación en este trabajo se realizó con 20 esporas por especie de hongos micorrízicos. El inóculo fue almacenado en el laboratorio de Micología de la Facultad de Ciencias Forestales de la UANL por Méndez (2012), posterior a un estudio basado en la estadística descriptiva para determinar la diversidad de HMA que estuvieran directamente asociados a *C. odorata* bajo dos ecosistemas tropicales seleccionados, la selva mediana subperennifolia y la selva alta perennifolia donde para cada uno de los

escenarios, el mismo autor, determino las 2 especies micorrícicas (Cuadro 5) más fuertemente representadas en el suelo donde se encontraba la rizósfera de los árboles.

Cuadro 8.- Especies micorrícicas de dos ecosistemas tropicales de Veracruz.

Selva mediana perennifolia
Glomeraceae *<i>Glomus aggregatum</i> N.C. Schenck & G.S. Sm.
*Diversisporales **Diversisporaceae ***<i>Diversispora spurca</i> (L.J. Kenn., J.C. Stutz & J.B. Morton) C. Walker & Schuessler
Selva alta perennifolia
*Glomerales **Glomeraceae ***<i>Rhizophagus custos</i> (C. Cano & Y. Dalpé) C. Walker & Schuessler
Acaulosporaceae *<i>Acaulospora mellea</i> Spain & N.C. Schenck

Tomado de Méndez (2012). *Genero ** Familia *** Especie y su nombre científico.

5.5. Regímenes de fertilización aplicadas a plántulas de *C. odorata* asociadas con HMA.

Las dosis de fertilizante usadas como referencia en este experimento son las recomendadas por la Aldama y Aguilera, (2003) (Cuadro 9) en el programa de fertilización para especies forestales tropicales que consiste en 4 fases de desarrollo.

Cuadro 9.- Basada en el Programa de fertilización para especies forestales tropicales de la CONAFOR (Aldama y Aguilera, 2003).

Fase de desarrollo	Etapas de aplicación	Duración (semanas)	Fertilizante (formula)	Concentración recomendada de N (ppm)
Germinación	1 ^a	1 ^a – 3 ^a	Sin fertilizante	
Crecimiento inicial	1 ^a	4 ^a - 6 ^a	7-7-17	25
Crecimiento rápido	1 ^a	7 ^a - 10 ^a	20-7-19	50
Endurecimiento o lignificación	1 ^a 2 ^a	11 ^a - 13 ^a 14 ^a - 16 ^a	4-7-35 Sin fertilizante	50

Para fines de este trabajo, las dosis de fósforo (P) se redujeron en las fórmulas de la fase inicial y crecimiento rápido a 7% debido a que a mayores concentraciones de este elemento se ve disminuida la micorrización (Callejas *et al.*, 2009; Gutiérrez *et al.*, 2009). Los cálculos de las cantidades de fertilizantes aplicados a *C. odorata* se muestran en el Cuadro 10.

Cuadro 10.- Cálculos de la cantidad de fertilizante por formula, con base al nitrógeno.

Fertilización en ppm requeridas	Cantidad de fertilizante (mg/L) por fase de desarrollo		
	Inicial (7-7-17)	Rápido (20-7-19)	Lignificación (4-7-35)
12.5	17.85		
25*	35.71		
37.5	53.57	187.5	93.75
50*		250	125
62.5		312.5	156.25

* Concentraciones recomendadas de N.

5.6. Establecimiento del experimento

La siembra se realizó en contenedores bolsa de polietileno negro de 7x18x6 cm (756 cm³) para producción de planta a manera tradicional, las cuales se llenaron con el sustrato “mezcla base” previamente húmedo, presionando ligeramente al momento del llenado. Previamente a la siembra, el día 9 de febrero se aplicó un riego pesado al sustrato de cada contenedor y con el extremo redondo de un probeta esterilizada se hizo una protuberancia cóncava donde se colocaron 3 semillas de *C. odorata* sin esterilizar e inmediatamente se depositaron 20 esporas de las diferentes especies de HMA entre las semillas procurando que al emerger la radícula a los 8 días (16 de febrero) ésta, tuviera contacto con el inoculante micorrízico. Se aplicó un riego cada 5 días con 100 ml a cada contenedor manteniendo el sustrato a capacidad de campo. El 29 de febrero presentada la germinación total en un 70% y la liberación de los cotiledones de cada planta; Se procedió a realizar el trasplante de las plántulas que emergieron en un mismo contenedor, esta acción fue acompañada de una segunda inoculación directa a la raíz con 20 esporas más de HMA correspondiente a cada cepa nativa, tanto a las plantas trasplantadas como a la que ocupó el lugar de germinación inicial. Se aplicó un riego pesado para evitar el estrés de las plántulas y la muerte. Enseguida se aleatorizaron las 6 repeticiones de las diferentes especies de HMA entre los 4 niveles de fertilización propuestos conformando el mismo número de bloques, donde uno de los riegos fue sustituido con la aplicación de 100 ml de solución madre mencionados anteriormente en el Cuadro 7, optimizando así el programa de fertilización.

Para la prevención y reducción de la presencia de *Fusarium sp.* se estableció el periodo de 5 días para la aplicación de los riegos, ya que las condiciones de temperatura promedio de 26°C, la humedad, la baja tasa de iluminación solar y la escasa evaporación del sustrato ocasionado por el lugar donde se estableció el experimento, propició las condiciones para que se presentara la mortalidad del 21.15% (56 plantas) de las plantas debido a la presencia de este hongo causante del Damping-off.

5.7. Variables de estudio

Las variables de estudio divergen entre y dentro de las etapas de este estudio en dos categorías bien definidas; las que son medibles determinadas por las 5 fechas de evaluación establecidas y las variables extraídas del muestreo destructivo al que conlleva la evaluación de colonización intrarradical de los hongos formadores de micorriza.

Las variables medibles en la respuesta de *C. odorata* al inóculo nativo son la altura, el diámetro y el número de hojas compuestas. Las tres variables se empezaron a medir 47 días después del trasplante (ddt), mientras el peso seco de la parte aérea y de la raíz se determinaron 10 días después de la última medición (136 ddt).

En la medición de la altura se tomó como punto de partida la base del tallo y como punto de referencia la yema apical más alta, este ejercicio se realizó con la misma regla metálica en cada una de las fechas de medición.

La determinación del diámetro se realizó en la base del tallo utilizando un solo vernier digital en todas las fechas de medición.

El conteo del número de hojas se realizó de forma manual contando todas las hojas visibles a lo largo del tallo en cada fecha.

Determinación del porcentaje de colonización intrarradical, para esta variable se cortó 1 g de raíces secundarias y se utilizó el método de Philips y Hayman (1970) (Anexo 1) que consiste en la coloración de las estructuras de HMA (arbuscúlos, vesículas e hifas, que son estructuras de formación del hongo dentro de las raíces de las plantas) dentro del sistema radicular de las plantas, donde solo se evaluó la presencia o ausencia de las estructuras del hongo en intersecciones de las raíces evaluadas (Anexo 2).

El peso seco aéreo y radicular se determinó colocando la parte aérea y radicular de las plántulas en una bolsa de papel de estraza etiquetada de acuerdo al tratamiento y se introdujeron en la estufa de secado hasta obtener el peso constante.

5.8. Análisis estadístico

Todos los datos obtenidos en las variables de estudio del diseño experimental, fueron ordenados y sometidos a su análisis de varianza (ANOVA) utilizando el programa estadístico Minitab 15 mediante el siguiente procedimiento del modelo estadístico para dos factores propuesto por Kuehl, (2001) y se aplicó una comparación múltiple de medias a través de la prueba Tukey ($\alpha=0.05$).

$$Y_{ijk} = \mu_{ij} + e_{ijk}$$

Donde:

$i = 1, 2, \dots, a$. Niveles del factor A .

$j = 1, 2, \dots, b$. Niveles del factor B .

$k = 1, 2, \dots, r$. Replicas de combinaciones.

μ_{ij} = es la media de la combinación de los tratamientos A_i y B_j .

e_{ijk} = son los errores experimentales aleatorios con media 0 y varianza σ^2 .

El análisis de datos estará en función al cumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza de los datos como lo considera Kuehl, (2001).

6. RESULTADOS

6.1. Respuesta de variables de crecimiento

Los resultados se analizaron por efecto en la regímenes de fertilización (RF) el cual fue el único que presentó diferencias significativas ($p \leq 0.05$), además del inoculación con HMA y en la combinación de estos dos factores (RF*HMA) en busca de una respuesta a través de las variables de crecimiento. En el Cuadro 11 se resumen los valores numéricos de dichos factores en las diferentes variables evaluadas.

Cuadro 11.- Resumen del análisis de varianza para variables de respuesta

Variable	RF			HMA			RF*HMA			CME
	CM	F	P	CM	F	P	CM	F	P	
Altura	5.23	0.54	0.653	11.14	1.16	0.339	2.57	0.27	0.999	9.61
Diámetro	0.22	2.95	0.038*	0.06	0.81	0.567	0.06	0.85	0.638	0.07
N. Hojas	1.83	2.02	0.118	1.835	1.26	0.287	0.840	0.58	0.905	1.45
Peso/Área foliar	0.00	1.10	0.356	0.00	0.33	0.917	0.00	0.65	0.844	0.00
Peso seco raíz	0.00	0.04	0.990	0.00	1.73	0.127	0.00	1.29	0.223	0.00
Peso seco tallo	0.00	0.56	0.642	0.011	0.75	0.614	0.00	0.66	0.835	0.015
Arbúsculos	229.58	2.844	0.047*	16.87	0.21	0.957	30.57	0.38	0.979	80.77
Vesículas	3200.8	6.49	0.001*	250.8	0.51	0.768	0.298	0.60	0.857	493.1
Hifas	2012.8	3.68	0.018*	896.5	1.64	0.167	352.0	0.64	0.824	546.7

* Muestra las diferencias significativas (Tukey $p \leq 0.05$) de los factores en cada variable de respuesta.

En la variable altura de planta los tratamientos factoriales no mostraron efecto significativo en la última evaluación realizada hasta con las plantas a las cuales no se les aplicó fertilización. Aun que el régimen 0 ppm no fue diferente que los demás, presentó las menores alturas de las plantas. La fertilización con 12.5 ppm presentó poco más de 4 mm menos en comparación con el régimen 25 ppm. Los HMA nativos hacen su función de absorción de los nutrientes al grado que especie *A. mellea* reflejó más su capacidad de asimilación en la mayor altura de las plantas, mostrando 2.28 cm más que las plantas no inoculadas (Figura 8A).

Por otra parte, el diámetro de las plantas bajo el nivel de factor 25 ppm atribuyó diferencias significativas ($p \leq 0.05$) resultando ser superior a las plantas no fertilizadas, aunque no fue diferente significativamente de las concentraciones de fertilizante 12.5 y 37.5 ppm. Las plantas no fertilizadas presentaron menor diámetro, determinando la importancia de la fertilización en la producción de planta micorrizada. La especie *D. spurca* aumento el diámetro de las plántulas en más de 1.1mm en comparación con las no inoculadas (Figura 8B). Lo anterior nos indica la capacidad de los HMA en la asimilación de los nutrientes.

En cuanto al número de hojas, no se presentaron diferencias al comparar el nivel de fertilización 0 ppm con el régimen de 25 ppm. Sin embargo, la asimilación de los

nutrientes por la especie micorrícica *A. mellea* proporcionó el crecimiento en promedio de 1.8 hojas más que las plántulas inoculadas con *R. custos* (Figura 8C).

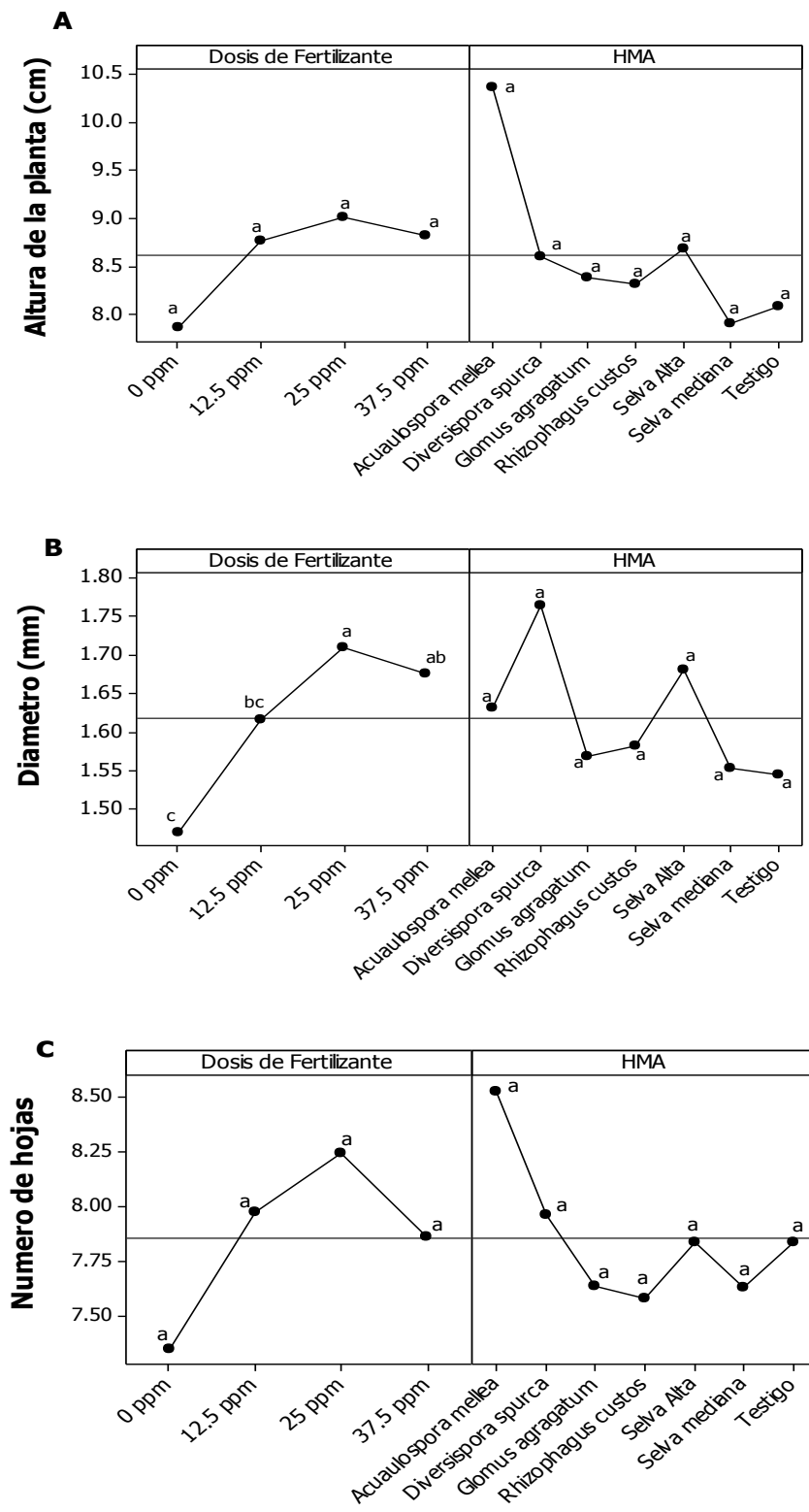
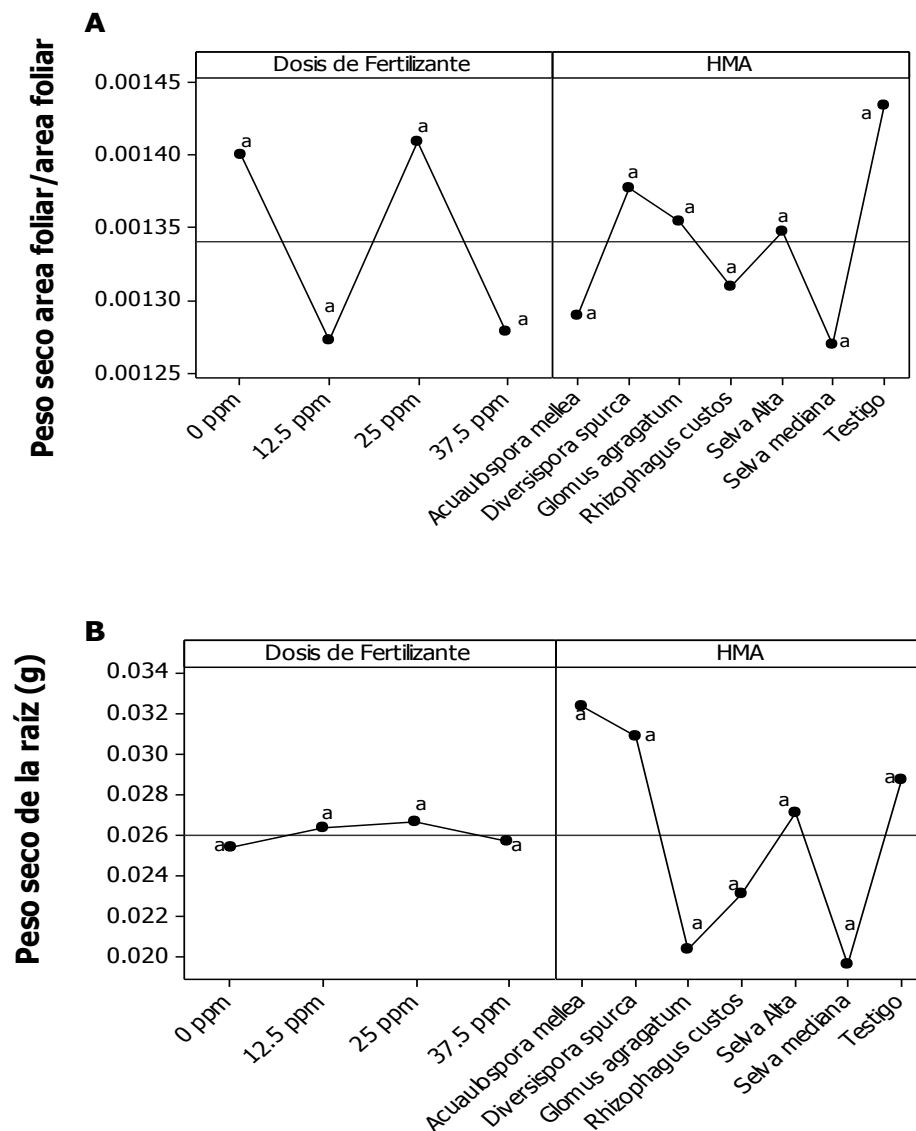


Figura 8.- Respuesta de variables de crecimiento bajo el régimen de fertilización a planta de *C. odorata* asociada con HMA. **A:** variable Altura. **B:** variable Diámetro. **C:** variable Número de hojas- en los niveles de cada factor. Niveles de factores con la mismas letras son estadísticamente iguales (Tukey $p \leq 0.05$).

El análisis de varianza para la variables peso seco foliar (g) / área foliar (cm²), peso seco tallo y peso seco raíz, muestra que en los factores involucrados así como en su combinación, no existen diferencias significativas, no obstante, la comparación de medias indica que la dosis de fertilizante 25 ppm fue superior al incrementar el peso seco de dichas variables en las plantas inoculadas con la especie micorrícica *D. spurca* en la variable peso seco foliar/área foliar (Figura 9A), la especie *A. mellea* dio más peso seco de la raíz y el tallo (Figura 9B,C) seguida da la especie *R. custos*.



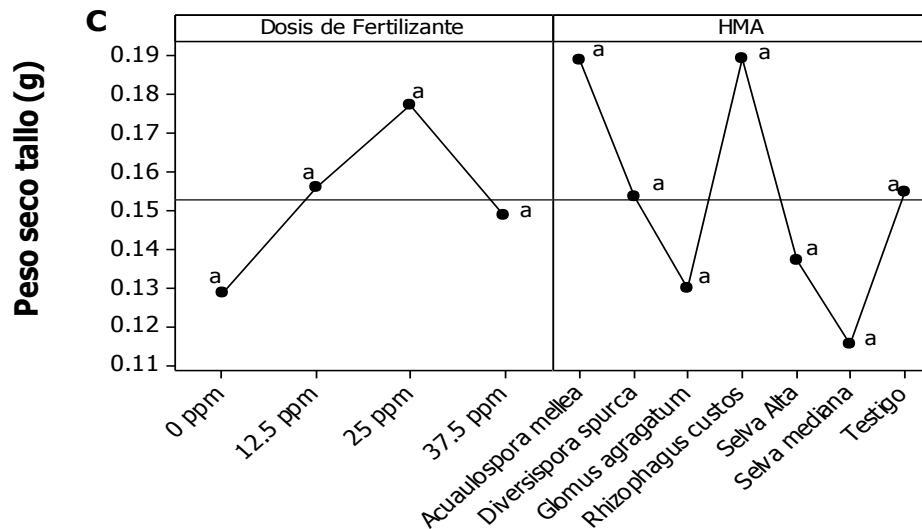


Figura 9.- Peso seco foliar de *C. odorata* por factor, al final del cultivo establecido dentro del laboratorio. A. peso seco foliar/área foliar. B. peso seco raíz. C. peso seco tallo. La misma letra indica que son estadísticamente iguales según la prueba Tukey $p \leq 0.05$.

La combinación de ambos factores indica en el Cuadro 11 que no existe interacción en las variables antes evaluadas con respecto a las especies micorrícicas y los diferentes regímenes de fertilización.

6.2. Respuesta a la eficiencia de colonización de HMA en *C. odorata*

Las diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la eficiencia de colonización intrarradical por los HMA en *C. odorata* se debió principalmente a las diferentes concentraciones de fertilizante, presentándose el mayor porcentaje de arbuscúlos, vesículas e hifas a una concentración de 25 ppm en el régimen de fertilización. Los arbuscúlos y hifas estuvieron presentes en 99.66 y 47.4 % en las intersecciones de las raíces evaluadas respectivamente, ambas estructuras del hongo micorrícico arbuscular fueron superiores en las plantas inoculadas con la especie *A. mellea* y *R. custos* (Figura 10A,C) mientras que las vesículas tuvieron una mayor presencia dentro de las raíces de plantas asociadas también con la especie micorrícica *R. custos* (Figura 10B). La comparación de medias para la combinación de ambos factores indicó que todos los tratamientos son iguales (Cuadro 11).

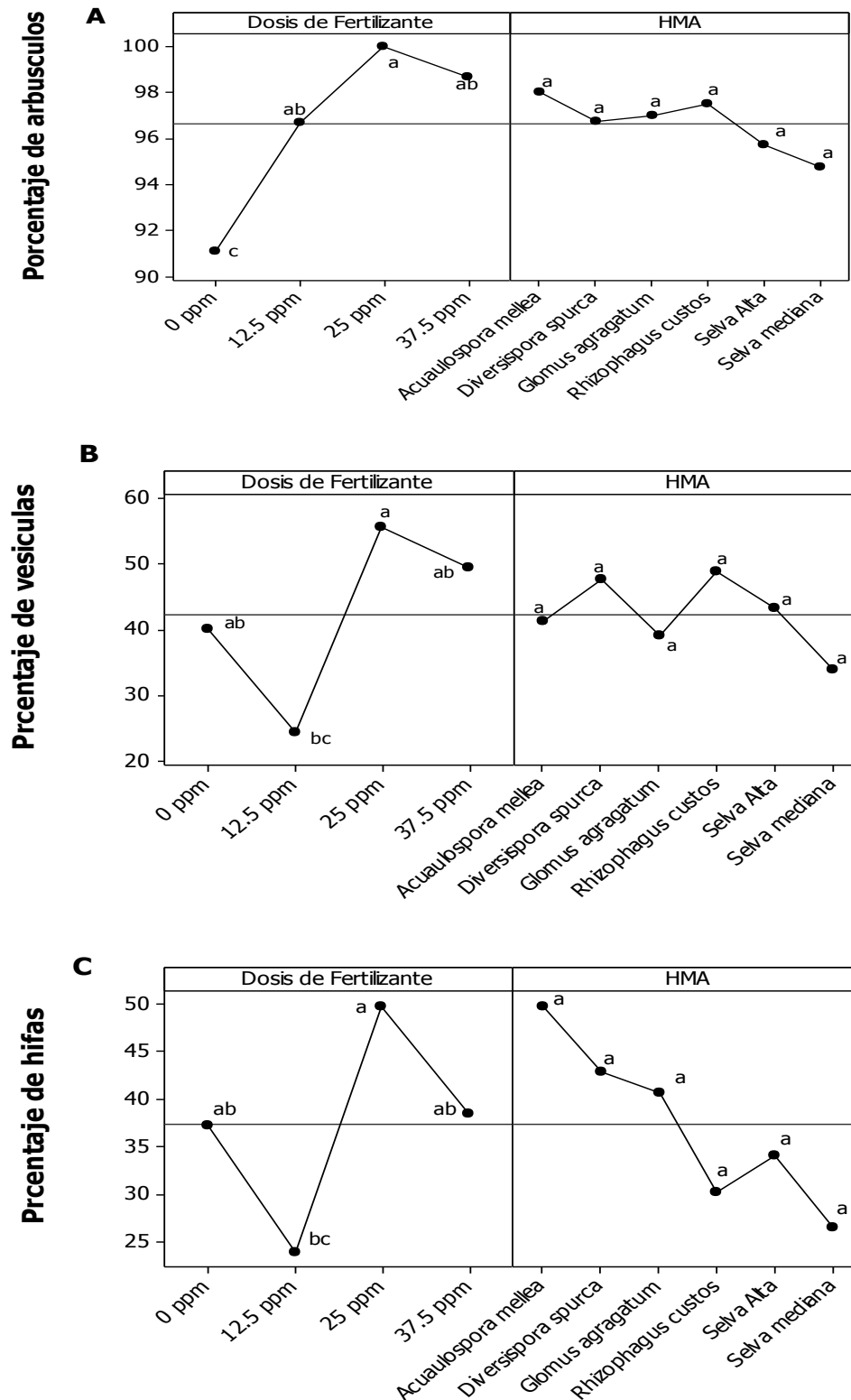


Figura 10.-Respuesta a la eficiencia en inoculación de HMA a plantas de *C. odorata* bajo regímenes de fertilización. A. % arbusculos. B. % de vesículas. C. % hifas. Niveles de factores con la mismas letras son estadísticamente iguales (Tukey $p \leq 0.05$).

7. DISCUSIÓN

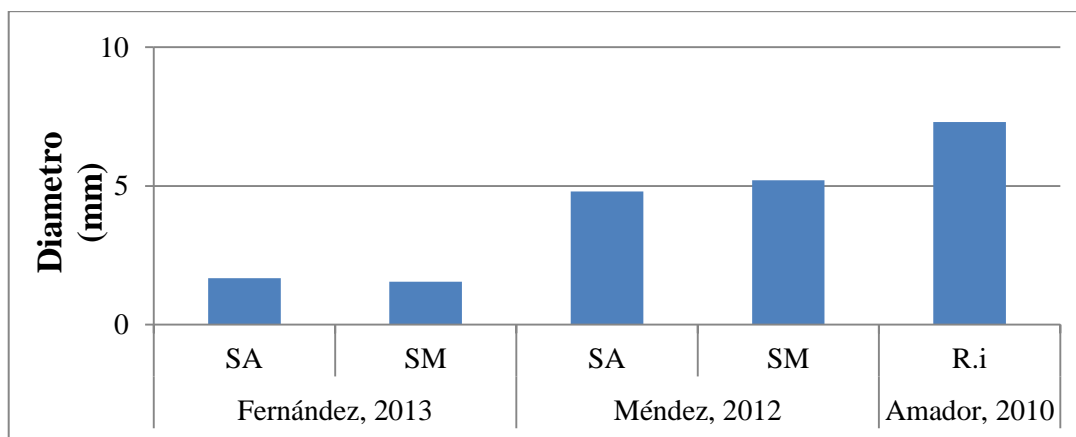
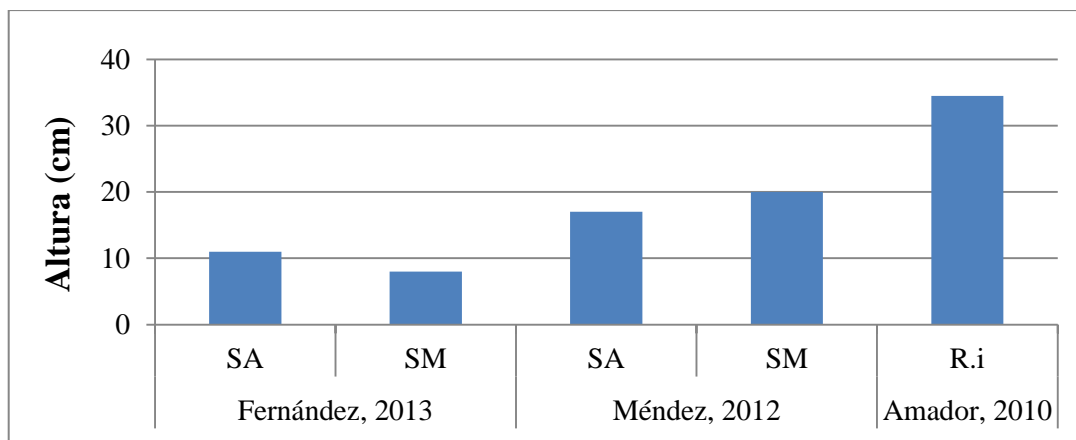
A. mellea aportó mayor altura a las plantas y es una de las especies micorrícicas arbusculares con más presencia en las selvas altas, las cuales se caracterizan por las abundantes precipitaciones y árboles con más de 30 (m) metros de altura. Es posible según Aziz *et al.*, (1995) que la estructura de este ecosistema (selva alta) sea promovido por el tipo de microorganismos mutualistas con los que se asocian las plantas en su medio ambiente natural. El mayor porcentaje de arbusculos e hifas fueron encontrados en el interior de las raíces en la etapa inicial de crecimiento de las plantas de *C. odorata* asociadas con *A. mellea* ya que estas estructuras micorrícicas son fundamentales para la transferencia bidireccional de nutrientes y agua según Blee y Anderson (1998). Esto coincide con las condiciones ambientales del experimento, puesto que el sustrato siempre mantuvo la humedad a capacidad de campo. Condiciones adecuadas para el inóculo procedente de la selva alta donde las precipitaciones superan la capacidad de campo. Méndez, (2012) asegura que en condiciones ambientales naturales, la temporada de lluvias promueve mayormente la presencia hifas y arbusculos dentro de la comunidades micorrícicas.

D. spurca es una especie que se caracteriza por no formar vesículas en el interior de las raíces que coloniza y es el primer registro en las Selvas medianas perennifolias según Méndez (2012), ya que sólo se han estudiado para el estado de Veracruz las especies de la selva alta perennifolia en los trabajos de Guadarrama y Álvarez (1999). Sin embargo, en este estudio dicha especie fue la segunda que presentó mayor porcentaje de vesículas y produjo el mayor diámetro en las plantas. Esto es de considerarse debido a que la formación de vesículas son reservorios de nutrientes del hongo según Perniske (2008), los cuales pueden ser una estrategia para la nutrición de él mismo en las temporadas más secas del año.

La especie *G. aggregatum* otorga a las plantas la capacidad de soportar con mayor facilidad el factor de estrés hídrico en ambientes naturales (Ruiz, 2003). Nosotros, encontramos que esta especie micorrícica produjo la menor biomasa radicular. Sin embargo, es común de acuerdo a Lovelock *et al.*, (2002), que en ambientes húmedos se presente con menor frecuencia relativa las especies del género *Glomus*, ya que la humedad del experimento se mantuvo a capacidad de campo y con baja iluminación. Las anteriores observaciones coinciden en este trabajo, puesto que el porcentaje de colonización por *G. aggregatum* fue menor en comparación con *A. mellea*. Lo anterior indica que esta especie podría requerir menor suministro de agua en la producción de planta forestal ya que la especie *G. aggregatum* ha sido identificado en ecosistemas secos según (Guadarrama *et al.*, 2007) y resulta ser menor relativamente en presencia de *A. mellea* en condiciones naturales húmedos Lovelock *et al.*, (2002). La respuesta *G.*

agragatum estuvo influenciada por la alta humedad y baja luminosidad. Pues se sabe que la respuesta de los HMA está en función de los factores ambientales en los que se desenvuelven (Rodríguez 2010).

En este estudio encontramos que los valores de las principales variables evaluadas como la altura, el diámetro y peso seco de la raíz son mucho menores que los encontrados en otros trabajos donde se utilizaron especies de HMA nativos comparados con la especie comercializada *R. intraradices* en la producción de planta de *C. odorata* (Figura 11). Méndez (2012) reportó que el inoculante micorrícico de la selva mediana aporta mayores incrementos en altura y biomasa seca radicular. Él atribuyó los resultados a las condiciones ambientales y edáficas, las cuales aceleran el proceso de colonización. Amador (2010) muestra altos valores numéricos en las variables evaluadas, al inocular planta con *R. intraradices*. Este autor, encontró que las diferencias en altura y diámetro de las plantas de *C. odorata* se deben a la defoliación natural, y la máxima producción de biomasa la atribuye a la capacidad de asimilación de nutrientes por esta especie micorrícica. En contraste, Rodríguez (2010) comparó inoculantes nativos del genero *Acaulospora* y *Glomus* (las mismas especies asociadas a *C. odorata*) contra *R. intraradices* y no encontró diferencias significativas en la respuesta morfológica de las plantas inoculadas.



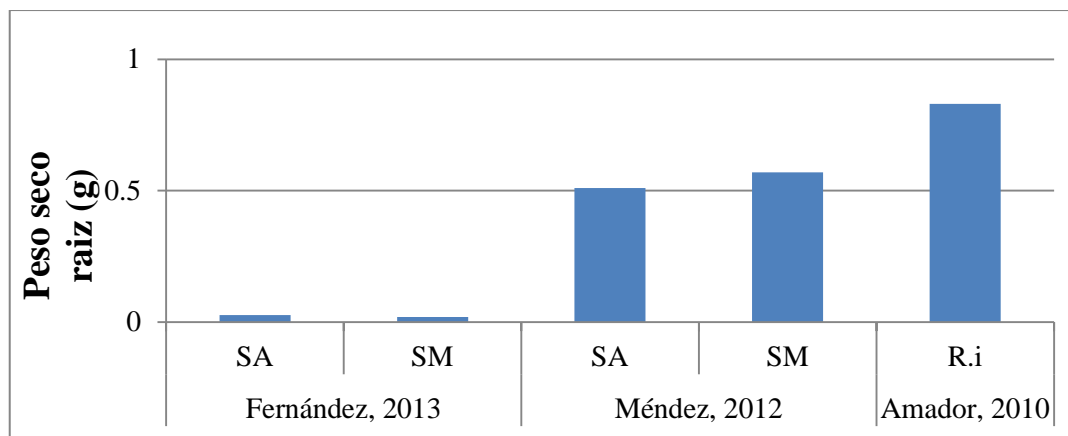


Figura 11.- Comparación de la altura en plántulas inoculadas con HMA nativos de la selva alta (SA) y selva mediana (SM) con la especie micorrícica *R. intraradices* (R.i).

En nuestro trabajo atribuimos los bajos valores de las variables evaluadas a las condiciones ambientales principalmente la humedad y temperatura, las cuales parecen beneficiar a la especie *A. mellea*. Es por ello que obtuvo mayores incrementos dentro del consorcio selva alta en comparación con las demás especies y el consorcio de la selva mediana, resultado contrario al encontrado por Méndez (2012).

Los porcentajes de colonización no tuvieron respuesta en relación con las diferentes fuentes de inóculo. Ésto es debido a que la colonización empezó desde el inicio de la germinación de las semillas, aumentando conforme la planta se desarrollaba. Con los trabajos de Amador (2010) y Rodríguez (2010) se pueden comparar las fuentes de inóculo del presente trabajo y de Méndez, (2012) observándose mayor porcentaje de colonización por las HMA nativos en comparación con *R. intraradices* (Figuras 12). Sin embargo Rodríguez (2010) dentro de su estudio, los HMA nativos presentaron menor colonización, sin diferencias significativas. Es necesario hacer énfasis en la utilización de los HMA nativos ya que están adaptados a factores ambientales tropicales en los que se distribuye *C. odorata*.

Las características de crecimiento particulares de las plantas observadas en el presente trabajo, atribuidas por los HMA nativos otorgan a la planta colonizada por el hongo procedente de dos diferentes ecosistemas tropicales (selva alta y mediana) la facultad de adaptarse a cualquier terreno destinado para reforestaciones, restauraciones y/o plantaciones comerciales forestales con cualquier característica ambiental (Guadarrama *et al.*, 2007). El consorcio de HMA nativos procedente de la selva alta con el que se inocularon las plantas demostró ser superior en todas las variables evaluadas en comparación con la selva mediana. Esta fuente de inóculo según Smith y Smith (2012) a través de la capacidad para absorber los nutrientes mejora la capacidad de producir fotosintatos útiles para la plantas, lo cual se traduce como el aumento en la producción

de biomasa (Guadarrama y Sánchez 2004). Además, las plantas micorrizadas manifiestan un aumento de la conductancia estomática en las hojas, lo que trae consigo una mayor cantidad de solutos en la planta, que son utilizados en la producción de biomasa vegetal según Echevarría *et al.*, (2011). El mismo autor muestra que los consorcios como inoculantes nativos aportan mayores incrementos en las variables evaluadas, coincidiendo con los resultados encontrados en nuestro estudio, aun que fuesen similares a los de más tratamientos. Indicando además que con los consorcios de HMA las plantas soportan y se recuperan mejor después de la presencia de un déficit hídrico, lo que puede estar asociado a la ocurrencia de efectos sinérgicos entre las diferentes especies que lo conforman, potenciándose unas a otras.

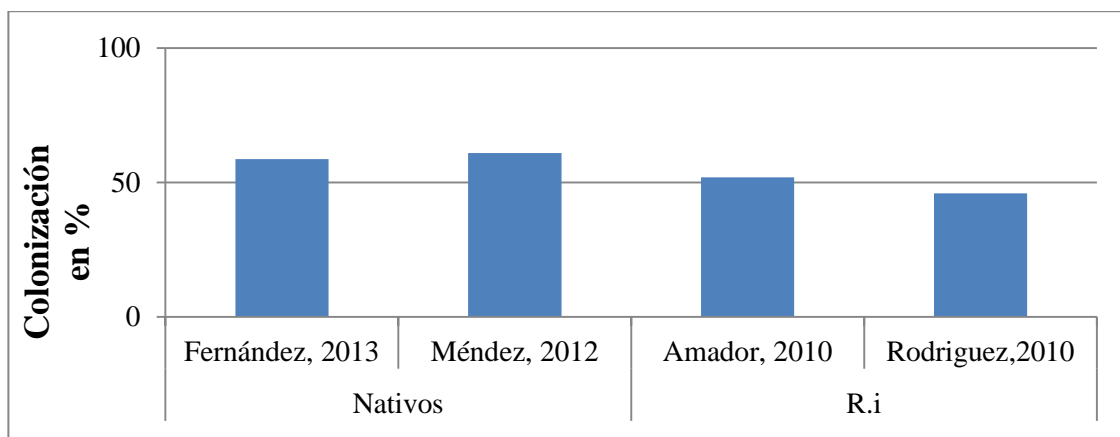


Figura 12.- Comparación de la colonización de HMA nativos y *R. intraradices* (R.i).

Con el uso de HMA en la producción de planta se puede aumentar las probabilidades de éxito de programas de reforestación y/o restauración (Guadarrama y Sánchez 2004) al utilizar las especies micorrizas nativas (Kalinhoff 2012) que están adaptadas a los terrenos donde se distribuye *C. odorata*.

Para los programas de reforestación y restauración, la calidad en la producción de planta forestal, se traduce como la capacidad que tienen las plantas para sobrevivir en campo; esta capacidad se puede evaluar en la etapa de vivero contemplando las características morfológicas, principalmente la altura más alta, diámetro y formación de raíces en las plantas de acuerdo a Santiago *et al.*, (2007). En nuestro estudio, el incremento en dicha calidad de planta y la posible capacidad de sobrevivir mayormente en campo se encontró al evaluarse las variables antes mencionadas. Dichas características de calidad en plantas fue atribuida por las especies micorrícicas *A. mellea*, *D. spurca* y *G. aggregatum*, cuyas funciones primordiales fue la asimilación de nutrientes, reflejando un mayor incremento no significativo en altura, diámetro y formación de raíces en la etapa de vivero. Sin embargo es prudente proponer el uso de estas micorrizas arbusculares, por ser las

principales componentes de la comunidad nativa micorrícica arbuscular de las raíces de los árboles y el subsuelo de donde se distribuye *C. odorata* en el estado de Veracruz (Méndez, 2012). El uso de HMA nativos mixtos es beneficioso para las plantas nativas en la restauración de ecosistemas degradados y recomendado para mejorar los atributos morfológicos, fisiológicos, la sobrevivencia de las plántulas en suelos perturbados y además, los efectos positivos de la inoculación se mantienen en el tiempo, incluso después de un periodo prolongado de sequía en campo, ya que el suelo impone una fuerte presión de selección sobre la respuesta de la planta a la simbiosis (Kalinhoff 2012). Por su parte, la utilización de este tipo de inoculante incrementa la productividad vegetal, se reduce la competencia entre individuos aumentando la diversidad, se modifica la velocidad y dirección de la sucesión vegetal (Guadarrama y Sánchez 2004) otorgando una herramienta muy útil en la restauración de ecosistemas.

La Comisión Nacional Forestal, creada por decreto presidencial el 4 de abril del 2001, es un Organismo Público Descentralizado cuyo objetivo es desarrollar, favorecer e impulsar las actividades productivas, de conservación y restauración en materia forestal, así como participar en la formulación de los planes, programas, y en la aplicación de la política de desarrollo forestal sustentable (CONAFOR 2012). Así es el compromiso de esta dependencia de gobierno que, en el Informe para la Auditoría Superior de la Federación (2009) se reportó que en el año 2007 los viveros del país produjeron 186.3 millones de plántulas para el programa Pro-Árbol, de las cuales 23.7 millones de plántulas (12.7%) fueron de *C. odorata*, mismas que requirieron un poco más de \$ 1, 329,570.00 pesos solo para cubrir las necesidades de fertilización de ese año. Con la aplicación de estos hongos micorrícicos en la etapa de vivero se pudiese reducir la inversión en agroquímicos de tipo fertilizante a más de \$ 664,785.00 pesos a nivel nacional para la producción en contenedor de *C. odorata*, ya que en este estudio se demostró que reducir el 50% la dosis de fertilizante (12.5 ppm) con respecto a 25 ppm que aplica la CONAFOR, da los mismos resultados en el desarrollo de las plantas de *C. odorata* en la etapa de vivero, reafirmando que la absorción de nutrientes es mejorada por este tipo de endófitos según Guerra (2008).

La reducción de costos es el efecto colateral del uso de estos simbioses micorrícicos, puesto que en la producción de planta tropical el principal beneficio es ajustarse a la política de desarrollo forestal sustentable para la cual trabaja CONAFOR. Utilizando HMA nativos en la producción de planta se dejaría de contaminar con más de las 37,600 toneladas de fertilizante (según los insumos utilizados en la producción de planta tropical de la CONAFOR Aldama y Aguilera 2003) que son utilizados en la producción de *C. odorata* en el país. Además que la micorriza arbuscular nativa debe ser considerada como una simbiosis multifuncional cuyos efectos no se restrinjan a la reducción de costos en la nutrición de los cultivos, sino que incluyen también beneficios en términos de la adaptabilidad de las plantas frente al estrés ambiental (patógenos,

metales pesados según Prasad *et al.*, 2011, sequía), del uso sostenido del suelo y de la conservación de la diversidad biológica (Guerrero *et al.*, 1996), este último beneficio, es el más importante dentro de la restauración ya que con las micorrizas nativas se pueden determinar el rumbo de las comunidades vegetales de los ecosistemas tropicales (Aziz *et al.*, 1995).

8. CONCLUSIÓN

La falta de diferencias significativas entre las fuentes de inóculo, determinan rechazar la hipótesis nula, pues se podrían alcanzar los mismos resultados en la producción de planta con cualquiera de las especies nativas según el análisis de los datos. Sin embargo, al usar las especies más representativas integrantes de la comunidad micorrícica de los suelos nativos con respecto a los ecosistemas tropicales de Veracruz, se determina que la utilización de un consorcio de especies nativas integrado por las especies *A. mellea*, *D. spurca* y *G. aggregatum*, en la producción de *C. odorata* será útil para alcanzar los índices de calidad de planta y proporcionar la capacidad de adaptación de la especie arbórea a un mayor rango de distribución tanto en suelos fértiles y muy húmedos como en suelos pobres y secos. Sin embargo, es necesario seguir evaluando el efecto de este consorcio propuesto, para asegurar que no influye una especie en la colonización de otra y hacer comparaciones con otras especies comerciales; así como extender estudios en busca de la relación que pudiese existir entre poblaciones naturales de otros Estados donde se encuentre *C. odorata* y hongos micorrícicos arbusculares.

Es posible disminuir las dosis de fertilizante utilizadas por la CONAFOR con la utilización de HMA nativos en la producción de *C. odorata* en contenedores, contribuyendo además, con tecnologías estratégicas de desarrollo sustentables útiles en la restauración de los ecosistemas tropicales. Sin embargo, aún queda por resolver la problemática de abastecer la demanda de inóculo a nivel nacional, en el momento determinante de aceptar esta herramienta biológica en la producción de planta dentro del sistema forestal, pues la producción de inóculo a gran escala sigue siendo un reto para la demanda de planta a nivel nacional.

9. LITERATURA CITADA

- Abdel L, A.A.H y Chaoxing H. 2011. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition, antioxidant, enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress. *Scientia Horticulturae* 127 . pp 228–233.
- Alarcón A. y Ferrera C. 1999. Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. *Terra* 17: pp. 179-191
- Alarcón A. y Ferrera C.R. (1999). Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. *Revista Terra* 17: pp. 179-191.
- Alarcón A., Amaráz S.J.J., Ferrera C.R., González-Chávez M.C.A., Lara H, M.E., Manjarrez M, M.J., Quintero L.R. y Santamaría R.S. 2001. Manual: Tecnología de hongos micorrízicos en la producción de especies forestales en vivero. Colegio de Postgraduados. SEMARNAT-PRONARE. México. p: 98.
- Aldama B.R. y Aguilera R.M. 2003. CONAFOR; “Procedimientos y cálculos básicos, útiles en la operación de viveros que producen en contenedor”. p 45.
- Aleklett K. y Wallander H. 2012. Effects of organic amendments with various nitrogen levels on arbuscular mycorrhizal fungal growth. Section of Microbial Ecology, Department of Biology, Sölvegatan 37, 223 62, Lund University, Sweden. *Applied Soil Ecology* 60 . pp. 71– 76.
- Alexander I.J. y Lee S.S 2005. Mycorrhizas and ecosystem processes in tropical rain forest: implications for diversity. In: Burslem RFRP, Pinard MA, Hartley SE, eds. *Biotic interactions in the tropics: their role in the maintenance of species diversity*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, pp. 165-203.
- Álvarez S.J., Guadarrama P., Sanchez G.I. y Olivera D. 2007. Restauracion de ambientes deteriorados derivados de la selva tropical humeda: el uso de Iso hongos micorrizogenos arbueculares. *Bol.Soc. Bot.Mex.* 80. pp. 59-68.
- Amador A.L. 2010. Evaluación de tres métodos de inoculación con micorriza en el desarrollo de cedro rojo (*Cedrela odorata* L) en contenedor. Tesis profesional ITSZ, p. 104.
- André T.; Maristera R. L.; James G. y Rogério, G. 2008. Post-logging loss of genetic diversity in a mahogany (*Swietenia Macrophylla* King, Meliaceae) population in Brazilian Amazonia, *Forest Ecology and Management* 255 pp. 340–345.
- ARGOLITA 1. Sustrato elaborado con Peat moss, Perlita, Vermiculita y Fertilizante de liberación controlada. Obtenido de la red mundial el 24 de octubre del 2012. http://www.agrolita.com.mx/4-mezclas/Mezcla_1.pRF;
- ARGOLITA 2. Caracterización física y química de Vermiculita. Obtenido de la red mundial el 24 de octubre del 2012. http://www.agrolita.com.mx/Baja_Ficha_tecnica_vermiculita.pRF-

- Arriaga M.R., González H.A., Castillo G, A.M., Olalde P.V, Reyes R, BG., Aguilera G.Ll. 2009. Respuesta de *Lilium* sp. al fósforo y su relación con *Glomus fasciculatum* y *Bacillus subtilis*. *Phyton* (B.Aires) vol.78 no.2.
- Aziz T., Sylvia D.M y Doren R.F. 1995. Activity and Species Composition of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Following Soil Removal. *Ecological Applications* Vol. 5, No. 3, pp. 776-784.
- Benítez B.G.; Pulido-Salas M, T. P. y Equihua Z. M. 2004. Árboles Multiusos Nativos de Veracruz para Reforestación, Restauración y Plantaciones. Instituto de Ecología, A.C. Xalapa Veracruz, Sistema de Investigación Golfo de México. CONAFOR. pp. 20-25.
- Berrospe O, E.A.; Ordaz C, V.M.; Rodríguez M, M.N.; Quintero L.R. 2012. Cachaza como sustrato para la producción de plántula de tomate. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, vol. 18, núm. 1, pp. 141-156.
- Blee K. y Anderson A. 1998. Regulation of arbuscule formation by carbon in the plant. *The Plant Journal* 16: pp. 523–530
- Bonfante P. y Genre A. 2008. Plants and arbuscular mycorrhizal fungi: an evolutionary-developmental perspective . Available online 12 August *Trends in Plant Science* Vol.13 No.9.
- Bravo M.A. 2007. Estimación maderable y evaluación financiera de plantaciones forestales comerciales de cedro y caoba en Oaxaca, México. Tesis de Maestría. Colegio de posgraduados Montecillo Texcoco estado de México. pp 99.
- Brundrett M., Melville L. and Peterson L. 1994. Practical Methods in Micorrhiza Research. Mycologue Publications. p. 155.
- Brundrett M., Melville L. y Peterson L. 1994. Practical Methods in Micorrhiza Research. Mycologue Publications. p 155.
- Callejas R, B.A., Castillo G, A.M., Colinas L, M.T., González Ch, M. del C., Pineda P.J. y Valdez A, L. A., 2009. Sustratos y hongos micorrízicos arbusculares en la producción de Nochebuena. *Rev. Chapingo Ser.Hortic.* Vol.15, n.1, pp. 57-66.
- Castellanos M.V., R. Cárdenas N.R., García G, J.M., Illana A., Ocampo J.A., Steinkellner S. y Vierheilig H. 2012. Bioprotection against *Gaeumannomyces graminis* in barley – a comparison between arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil Environ.*, 58 (6): pp.256–261.
- Chapela G. 2012. Problemas y oportunidades en el mercado para las empresas sociales forestales en México. Consejo Civil Mexicano para la Silvicultura Sostenible, A.C. Universidad Autónoma Chapingo. p. 246.
- Chen B., Xiao X., Yong G.Z., Smith F.A., Miao X.Z., Smith E.S. 2007. The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* gives contradictory effects on phosphorus and arsenic acquisition by *Medicago sativa* Linn. *Science of the Total Environment* 379. pp. 226–234.

- Citrón, B.B. 2008 *Cedrela odorata* L. *Cedro hembra, Spanish cedar*. En: Burns, Obtenido en la red mundial el 15 de diciembre del 2008, <http://www.fs.fed.us/global/iitf/Cedrelaodorata.pRF>.
- Corkidi L., Allen E.B., Merhaut D., Allen MF., Downer J., Bohn J. y Evans M. (2004) Assessing the infectivity of commercial mycorrhizal inoculants in plant nursery conditions. *J. Env. Hort.* 22: pp. 149-154.
- Cuenca G., Andrade Z.D., Lovera M., Fajardo L., Meneses E., Marquez M., y Machula R. 2003. Pre-selección de plantas nativas y producción de inóculos de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) de relevancia en la rehabilitación de áreas degradadas de la Gran Sabana, Estado Bolívar, Venezuela. *Ecotrópicos* 16: pp. 27-40.
- Daniels B.A. y Skipper H.D. 1982. Methods of recovery and quantitative estimation of propagules from soil. In. *Methods and principles of mycorrhizal research*. Ed., N. C. Schenck. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota pp. 29-35.
- de la Torre A., López C., Yglesias E., Cornelius J.P. 2008. Genetic (AFLP) diversity of nine *Cedrela odorata* populations in Madre de Dios, southern Peruvian Amazon. *Forest Ecology and Management* 255 pp. 334–339.
- Echevarría A.M., Fernández S.K., Eduardo Jerez M.E., Olalde P.V., Rosalinda S, M.S. 2011. Influence of inoculation with *Glomus* hoi-like and a conglomerate of HMA species of plants on the growth of sorghum under water stress or not. *Cultrop*. vol.32, n.1, pp.16-27.
- Entry J.A., Rygiewicz P T., Watrud L.S., Donnelly P.K. 2002. Influence of adverse soil conditions on the formation and function of *Arbuscular mycorrhizas*. *Advances in Environmental Research*. Volume 7. pp. 123–138.
- FAO (Food and Agricultural Organization). 1975. Mejor protección y utilización de las selvas tropicales. Obtenido de la red mundial. <http://www.fao.org/docrep/f1360s/f1360s06.htm>
- Flores C. y Cuenca G. (2004). Crecimiento y dependencia micorrízica de la especie pionera y polenectarífera *Oyedaea verbesinoides* (Tara amarilla), Asteraceae. *Interciencia* 29: pp. 632- 637.
- Geist H.J y Lambin E.F. 2001. What Drives Tropical Deforestation. A meta-analysis of proximate and underlying causes of deforestation based on subnational case study evidence. *LUCC Report Series*; 4 ISSN: 1138-7424.
- Geist H.J. y Lambin E.F. 2002. Proximate Causes and Underlying Driving Forces of Tropical Deforestation. *BioScience* 52(2): pp. 143-150.
- Gerdemann J.W. y Nicolson T.H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transaction of the British Mycological Society* 46: pp 235-244.

- Giovanetti M., Avio L., Sbrana C. y Citernesi A. 1993. Factors affecting appressoria development in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerd. y Trappe. *New Phytologist* 123:pp. 114–122.
- Gómez D.N., Carreón A.Y y Fernández P, S.P. 2008. Reducción de la susceptibilidad a *Phytophthora capsici* Leonian causante de la pudrición de raíz en jitomate (*Solanum lycopersicum* L). *Biológicas*, No. 10, pp. 100-108.
- Gómez-Pompa, A., C. Vásquez-Yanes, and S. Guevara. 1972. The tropical rain forest: A non-renewable resource. *Science*. 117 (4051): pp. 762-65.
- Guadarrama C.P., Camargo R, S.L., Hernández C.L. y Castillo A.S. 2007. Los hongos micorrizógenos arbusculares de la región de Nizanda, Oaxaca, México. *Bol.Soc.Bot.Méx.* 81: pp.131-137.
- Guadarrama P. y Álvarez S, F.J. 1999. Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi spores in different environments in a tropical rain forest, Veracruz, Mexico. *Mycorrhiza* 8 :pp. 267–270.
- Guadarrama P. y Sánchez G.I, 2004. Hongos y plantas; beneficios a diferentes escalas en micorrizas arbusculares. *Ciencias. UNAM.* p 8
- Guadarrama P., Sánchez G.I., Álvarez S.J., Ramos Z.J. 2004. Hongos y plantas, beneficios a diferentes escalas en micorrizas arbusculares. *Ciencias.* 73: pp.38-45.
- Guerra S. B. E. 2008. Micorriza Arbuscular. *Recurso microbiológico en la agricultura sostenible Tecnología en Marcha*, Vol. 21-1, pp 191-201.
- Guerrero E.; Rivillas O, C.A. y Rivera, E.L. 1996. Perspectivas de manejo de la Micorriza arbuscular en ecosistemas tropicales. *MICORRIZAS. Recurso biológico del suelo.* Santafé de Bogotá (Colombia), Fondo FEN. p. 181-208.
- Guevara S.S.; Sánchez R.G. y Landgrave R.R. 2004. La deforestación. *Inecol.edu.mx.* Obtenido de la red mundial. <http://www1.inecol.edu.mx/paisaje/documentos/PRFs/5%20La%20Deforestaci%C3%B3n%20p%C3%A1g%2085-1.pRF>
- Gutiérrez G. y Ricker M. 2012. Ecología forestal de algunas especies arbóreas de interés para la reforestación y restauración del Parque Ecológico Tuzandepetl. *Instituto de Biología, UNAM.* p. 102.
- Gutiérrez O, V.F., Abud A, M., Flores P, A., Alvarez S, J.D. y Gutiérrez M, F.A. 2009. Influencia de los hongos micorrizicos arbusculares sobre el crecimiento de vitro plántulas de piña (*Ananas comosus* (L.) merr.) con diferentes niveles de fósforo. *Gayana bot.* vol.66, n.1, pp. 1-9.
- Hafich K., Perkins E.J., Hauge J.B., Barry D. y Eaton W.D. 2012. Implications of land management on soil microbial communities and nutrient cycle dynamics in the lowland tropical forest of northern Costa Rica. *Tropical Ecology* 53(2): pp. 215-224.

- Harrison M.J y van Buuren M.L, 1995. A phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*. Nature 378: pp. 626-629.
- Hernández W. y Salas E. (2009). La inoculación con *Glomus fasciculatum* en el crecimiento de cuatro especies forestales en vivero y campo. Agronomía Costarricense 33: pp. 17-30.
- Huante P., Ceccon E., Orozco S.A., Sánchez C, M.E., Acosta I. y Emmanuel R. 2012. The role of arbuscular mycorrhizal fungi on the early-stage restoration of seasonally dry tropical forest in Chamela, Mexico. Rev. Árvore, vol.36, n.2, pp. 279-289.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática) 2011. Sistema para la consulta del anuario estadístico de Veracruz de Ignacio de la Llave 2011. Obtenido de la red mundial el 23 de octubre del 2012. <http://www.veracruz.gob.mx/finanzas/files/2011/11/2-Medio-Ambiente-2011.pRF>
- Johnson N.C., Graham J.H. y Smith F.A. 1997. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. New Phytol. 135. pp. 575-585
- Kalinhoff R, C.G. 2012. Influencia de las micorrizas arbusculares sobre el crecimiento y respuesta a la sequía de *Piscidia carthagenensis* Jacq.: Implicaciones en la recuperación de un bosque seco de la península de Macanao, Isla de Margarita. Tesis doctoral, Universidad de Caracas, Venezuela. p. 193.
- Karandashov V. y Bucher M. 2005. Symbiotic phosphate transport in arbuscular mycorrhizas. Trends in Plant Science Vol.10 No.1.
- Koide R.T. 2006. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. Article first published online: 28 APR 2006. New Phytologist Volume 117, pp. 365–386.
- Kosuta S., Chabaud M., Loughon G., Gough C., Dénarié J., Barker D.G. y Bécard G. 2003. A diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi induces symbiosis-specific MtENOD11 expression in roots of *Medicago truncatula*. Plant Physiol. 131. pp. 952-962.
- Kuehl R. 2001. Diseño de experimentos; Principios estadísticos para el análisis y diseño de investigaciones. p. 666.
- Lovelock C.E. y Ewel J.J. 2005. Links between tree species, symbiotic fungal diversity and ecosystem functioning in simplified tropical ecosystems. New Phytologist .Volume 167, Issue 1, pp 219–228.
- Lovelock C.E., Kelly Andersen Joseph B. Morton. 2002. Arbuscular mycorrhizal communities in tropical forests are affected by host tree species and environment. Oecologia 135: pp. 268–279.
- Lucas S, L.G. 2011. Fertilización Fosfatada en Chile Guajillo (*Capsicum annuum* L.) y su interacción con hongos micorrícicos arbusculares. Tesis de Maestría. COLPOS – Texcoco, México. p .142.

- Marín P. Y. 2005. Influencia de la aplicación del biofertilizante micorrízico EcoMic en la producción de posturas de guayaba (*Psidium guajava* Mill) en la Isla de la Juventud. Centro universitario “Jesús montané oropesa” facultad de agronomía. Trabajo de diploma en opción por el título de ingeniero agrónomo.
- Martínez R.M, García O.X. 2007. Sucesión ecológica y restauración de las selvas húmedas. Boletín de la Sociedad Botánica de México año/vol. Sup número 080. pp. 69-84.
- Martínez G, L.B. (2011). Micorrizas arbusculares en ecosistemas semiáridos. Respuesta a factores de estrés ambiental. Ecosistemas 20(2-3):pp. 117-120.
- Martínez M.L., Pérez-Maqueo O., Vázquez G., Castillo-Campos G., García-Franco J., Mehlreter K., Equihua M. y Landgrave R. 2009. Effects of land use change on biodiversity and ecosystem services in tropical montane cloud forests of Mexico. Forest Ecology and Management 258. pp. 1856–1863.
- Martínez R.M. y García O.X. 2007. Sucesión ecológica y restauración de las selvas húmedas. Boletín de la Sociedad Botánica de México año/vol. Sup número 080. pp. 69-84.
- Martínez T.S. y Ramírez M, P.P. 2001. Evaluación del programa nacional de reforestación estado de Chiapas (PRONARE 2000-2001). Unidad de Investigación, Capacitación y Evaluación para el Desarrollo Rural de la Universidad Autónoma Chapingo. p 69.
- Mas J.F., Velázquez A., Días L.R., Mayorga R., Alcantara C., Castro R., Fernández T., Pérez A. y Bocco G. 2003. Assessing land use/cover changes in Mexico: a wall-to- wall multivariate GIS database. Geoscience and Remote Sensing Symposium. 5:3359-3361.
- Mecinas L.J., Door R.C. y Chung M.A. 1991. Micorrizas en tres especies forestales de la Amazonía peruana. Revista Forestal del Perú. v. 18(2). p. 29-34.
- Méndez C.H. 2012. Diversidad de hongos micorrícicos arbusculares asociados al cedro rojo (*Cedrela odorata* L.) en dos ecosistemas tropicales de Veracruz, México. Tesis doctoral, UANL. p. 200.
- Mexal JG, Rangel RAC, Negreros-Castillo P, Lezama CP (2002) Nursery production practices affect survival and growth of tropical hardwoods in Quintana Roo, Mexico. For. Ecol. Manag. 168: 125-133.
- Miyasaka S.C., Habte M., Friday J.B. y Johnson E.V. 2003. Manual on Arbuscular Mycorrhizal Fungus Production and Inoculation Techniques . Soil and Crop Management. SCM-5. p. 4
- Miyasaka S.C., Habte M., Friday J.B. y Johnson E.V. 2003. Manual on Arbuscular Mycorrhizal Fungus Production and Inoculation Techniques. Soil and Crop Management . SCM-5.
- Mohammad N, A.S. y Matsubara Y.. 2012. Tolerance to Fusarium Root Rot and Changes in Antioxidative Ability in Mycorrhizal Asparagus Plants. Hortscience 47(3): pp.356–360

- Monroy A.A., Esteves T.J., García S.R. y Ríos G.R. 2007. Establecimiento de plantas mediante el uso de micorrizas y de islas de recursos en un matorral xerófilo deteriorado Boletín de la Sociedad Botánica de México 80: pp. 49-57.
- Montaño N.M, Camargo-Ricalde S.L, García-Sánchez R. y Monroy A. 2007. Arbuscular mycorrhizae in arid and semiarid ecosystems). Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT, Mundi-Prensa SA de CV, UAM-Iztapalapa, FES Zaragoza, UNAM. Distrito Federal, México. p 460. .
- Moucheshi A., Heidari B., Assad M.T. 2012. Alleviation of drought stress effects on wheat using arbuscular mycorrhizal symbiosis. International Journal of AgriScience Vol. 2(1): pp. 35-47.
- Navazio L., Moscattiello R., Genre A., Novero M., Baldan B., Bonfante P. y Mariani P. 2007. A Diffusible Signal from Arbuscular Mycorrhizal Fungi Elicits a Transient Cytosolic Calcium Elevation in Host Plant Cells. Plant Physiology June vol. 144 no. 2. pp. 673-681.
- Niembro R.A., Vázquez T.M., y Sánchez S.O. 2010. Árboles de Veracruz: 100 especies para la reforestación estratégica. Comisión del Estado de Veracruz para la Conmemoración del Bicentenario de la Independencia Nacional y el Centenario de la Revolución Mexicana, Xalapa, México. p. 253
- Ohtomo R. y Saito M. 2005. Polyphosphate dynamics in mycorrhizal roots during colonization of an arbuscular mycorrhizal fungus. New Phytologist 167: pp. 571–578.
- Pacheco S. y Brown A. 2006. Ecología y producción de cedro (genero *Cedrela*) en la Yungas australes. LIEY-ProYungas. Argentina. pp. 9-18.
- Parniske M. 2008. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. Nature Reviews. microbiology Vol. 6. pp. 763-775.
- Pastor S, J.N. 1999. Utilización de sustratos en viveros. Terra. Vol. 17 3: pp. 231-235.
- Patiño V. 1997. Recursos Genéticos de *Swietenia* y *Cedrela* en los Neotrópicos: Propuesta para Acciones Coordinadas, FAO, Roma-Italia. p. 58 .
- Pennington T.D. y Sarukhán J. 2005. Árboles tropicales de México, manual para la identificación de especies. Universidad Nacional Autónoma de México. Tercera edición, Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial. pp 294-296.
- Phillips J.M. y Hayman D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesamento to infeccion. Trans. Brit. Mycol. Soc. 55: pp. 158-161.
- Pimentel D., Hepperly P., Hanson J., Douds D. y Seidel R. 2005. Environmental, Energetic, and Economic Comparisons of Organic and Conventional Farming System Source: BioScience, 55(7): pp. 573-582.

- Prasad A., Kumar S., Khaliq A y Pande A. 2011. Heavy metals and arbuscular mycorrhizal (AM) fungi can alter the yield and chemical composition of volatile oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L. *Biol Fertil Soils* 47: pp.853–861.
- Ramos Z.J. y Guadarrama P. 2004. Los hongos micorrizógenos arbusculares en la restauración de comunidades tropicales. *Universidad y Ciencia*, número especial I Universidad Juárez Autónoma de Tabasco Villahermosa, México pp. 59-65
- Read D.J. 1999. The state of the art. En: *Mycorrhiza* 2nd. (A. Varma y B. Hock, eds.). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. pp. 3-34.
- Rillig M.C 2004. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Can. J. Soil Sci.* 84: pp.355–363.
- Rillig M.R y Mummey D.L. 2006. Mycorrhizas and soil structure. Tansley review. *Journal compilation*, *New Phytologist*, Doi : 10.1111/j.1469-8137.
- Rodríguez M, V.H. 2010. Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares y su interacción con factores ambientales y fisiológicos en la producción de plántulas de caoba (*Swietenia macrophylla* King.) Tesis de Maestría del Colegio de posgraduados-Veracruz. México pp. 113.
- Rodríguez M, V.H., Soto E.A., Pérez M.J. y Negreros C.P. 2011. Los hongos micorrízicos arbusculares y su implicación en la producción y manejo de especies neotropicales forestales, con énfasis en meliáceas. *Interciencia*. Vol. 36 N° 8. pp. 564-569.
- Rodríguez M.R.; Alcantar G, E.G.; Iñiguez C.G.; Zamora N, J.F.; García L, P.M.; Ruiz L, M.A. y Salcedo P.E. 2010. Caracterización física y química de sustratos agrícolas a partir de bagazo de agave tequilero. *Interciencia*. 35 (7): pp. 515-520.
- Ruiz L, J.M. 2003. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. *New perspectives for molecular studies. Mycorrhiza* (2003) 13: pp 309–317.
- Ruiz L, J.M., Porcel R., Azcón C. y Aroca R. 2012. Regulation by arbuscular mycorrhizae of the integrated physiological response to salinity in plants: new challenges in physiological and molecular studies. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 63 No. 11, pp 4033-4044.
- Salazar C, E del C., Zavala C.J., Ofelia Castillo A.O. y Cámara R. 2004. Evaluación espacial y temporal de la vegetación de la Sierra Madrigal, Tabasco, México (1973-2003). *Investigaciones Geográficas, Boletín del Instituto de geografía, UNAM* , Núm. 54. pp. 7-23.
- Salgado-Barreiro, C.S.1; Bravo-Patiño, A.2; Wang, E.T.3; Cárdenas-Navarro, R.1,*2012.. Effect of the inoculation with *Rhizophagus intraradices* and nitrogen fertilization on growth of strawberry plants
- Sánchez C., Caballero D., Rivera R. y Cupull R. 2006. Respuesta de especies de hongos micorrizógenos (HMA) sobre el desarrollo de posturas de cafeto. I Parte. *Suelo pardo*

- gleyzoso. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), San José de las Lajas, CP 32700, La Habana, Cuba. Centro Agrícola.
- Santiago T.O., Sánchez M.V., Monroy R, C.R. y Salazar G, J.G. 2007. Manual de Producción de Especies Forestales Tropical en Contenedor. INIFAP.CIRGOC. Campo Experimental El Palmar. Folleto Técnico Nom. 44. Veracruz, México.
- Sarikhani M.R. y Aliasghar zad N. 2012. Comparative effects of two arbuscular mycorrhizal fungi and K fertilizer on tuber starch and potassium uptake by potato (*Solanum tuberosum* L.) .International Journal of Agriculture: Research and Review. Vol., 2 (3), pp. 125-134.
- Schüßler, A. y C. Walker, 2010. The Glomeromycota. A species list with new families and new genera. The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University. www.amphylogeny.com.
- SECRETARIA DE AGRICULTURA, GANADERIA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACION, 2012. Obtenido de la red mundial: <http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/infografias/Paginas/biosustenta.aspx>
- SEFIPLAN (Secretaria de Finanzas y Planeación). 2008. Anuario Estadístico de Veracruz Ignacio de la Llave del 2011. Obtenido de la red mundial el 23 de octubre de 2012. <http://www.veracruz.gob.mx/finanzas/anuario-estadistico-2008/>
- SEFIPLAN (Secretaria de Finanzas y Planeación). 2011. Anuario Estadístico de Veracruz Ignacio de la Llave del 2011. Obtenido de la red mundial el 23 de octubre de 2012. <http://www.veracruz.gob.mx/finanzas/files/2011/11/2-Medio-Ambiente-2011.pRF>
- SEFIPLAN (Secretaria de Finanzas y Planeación). 2011. Numeralia Histórica del Anuario Estadístico de Veracruz Ignacio de la Llave del 2011.obtenido de la red mundial el 23 de octubre de 2012. <http://www.veracruz.gob.mx/finanzas/files/2011/12/Numeralia-Historica-2011.pRF>
- Smith S.E. y Smith F.A. 2012. Fresh perspectives on the roles of arbuscular mycorrhizal fungi in plant nutrition and growth. *Mycologia*, 104(1), pp. 1–13.
- Tack F.M.G. y Meers E. 2010. Assisted Phytoextraction: Helping Plants to Help Us. *ELEMENTS*, Vol. 6. pp. 383-388.
- Taylor T.N., Remy W., Hass H. y Kerp H. 1995. Fossil Arbuscular Mycorrhizae from the Early Devonian. *Mycologia* Vol. 87, No. 4. pp. 560-573.
- Toledo C, P.F. 2006. Evaluación de un sustituto de turba de musgo (peat moss) como sustrato y un estimulador radicular en la producción de plántulas de maíz dulce (*Zea mays* l.) y tomate (*Lycopersicum esculentum* L) bajo condiciones de invernadero en San Jerónimo, Baja Verapaz. Tesis ingeniero agrónomo. Universidad Sancarlos Guatemala. pp. 75.
- Urgiles N., Loján P., Aguirre N., Blaschke H., Günter S., Stimm B. y Kottke I. (2009) Application of mycorrhizal roots improves growth of tropical tree seedlings in the

- nursery: a step towards reforestation with native species in the Andes of Ecuador. *New Forests* 38: pp. 229-239.
- V informe de gobierno 2011. V informe de gobierno, 2011. Desarrollo sustentable. Aprovechamiento sustentable de los recursos naturales. p 555-599.
- van der Heijden., Marcel G.A., Boller T., Wiemken A. y Sanders I.R. 1998. Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. *Ecology* 79: pp. 2082–2091.
- Vance C.P., Uhde S.C. y Allan D.L. 2003. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *Tansley review. New Phytologist* (2003) 157: pp. 423–447.
- Velázquez A., Mas J.F., Mayorga S.R., Palacio J.L., Bocco G., Gómez R.G., Luna G.L., Trejo I., López G.J., Palma M., Peralta A., Prado M.J. y González M.F. (2001). El inventario forestal nacional 2000. Potencial de usos y alcances. *Ciencias*, 64: pp.13-19.
- Young J.P.W. 2012. A molecular guide to the taxonomy of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* (2012) 193: pp.823–826
- Zamora M, B.P., Sánchez G.P., Volke H, V.H., Espinoza V.D., Galvis S.A. 2005. Formulación de Mezclas de sustratos mediante programación lineal. *Interciencia* Vol. 30 numero 006. pp. 365-369.

10. ANEXOS

Evaluación del porcentaje de colonización biotrófica por HMA en el sistema radicular de las plantas

Para la determinación de la presencia del hongo micorrízico-arbuscular en las raíces de las plantas de cedro y la cuantificación de la colonización de éstas, se utilizó la coloración de las estructuras del hongo dentro de la raíz, su observación al microscopio y el conteo de la infección. Para esta evaluación se utilizó el método de Philips y Hayman (1970). Este método permitió evaluar el porcentaje de estructuras de la micorriza: vesículas y arbuscúlos dentro de la raíz.

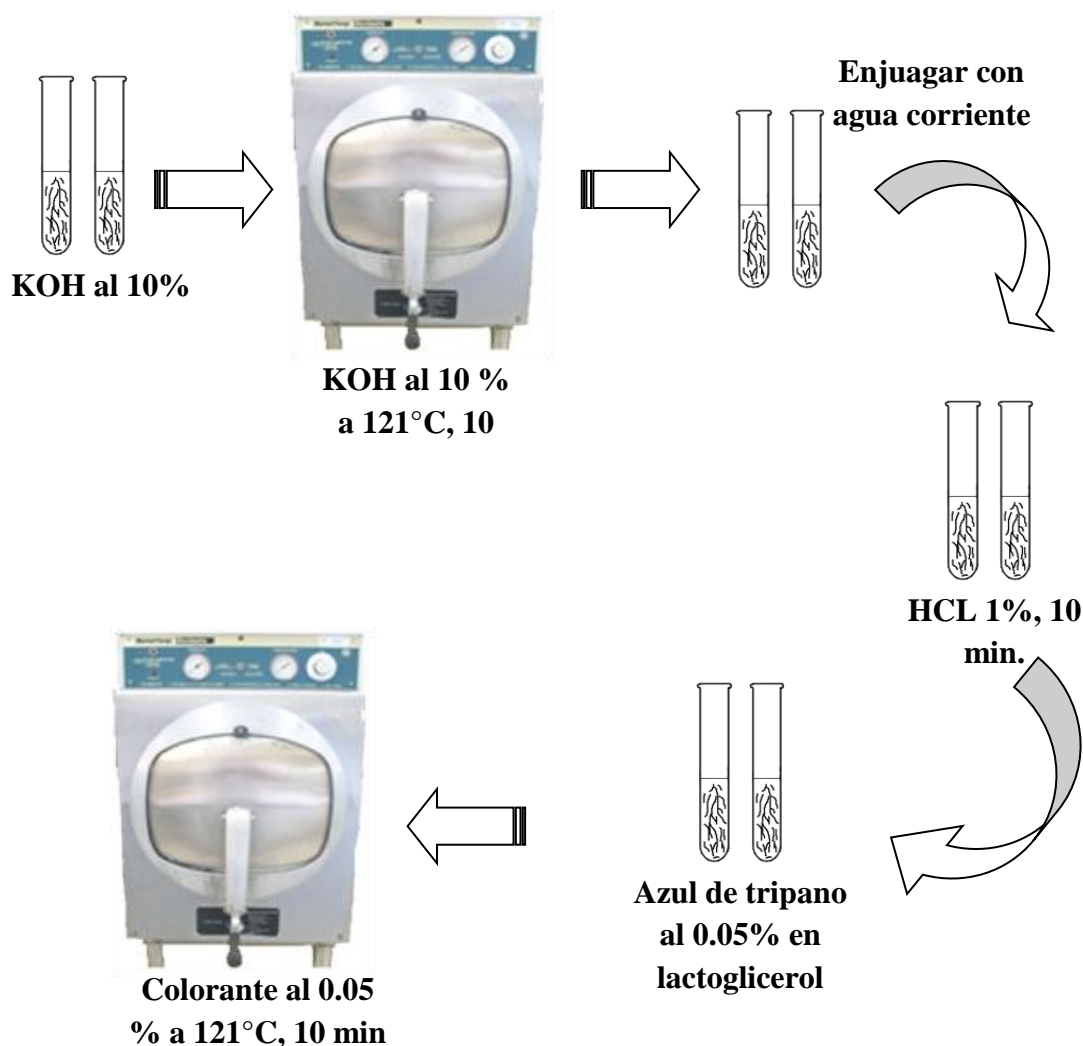


Figura 13.- Diagrama para el clareo y tinción de raíces micorrizadas.

Evaluación del porcentaje de infección por estructuras micorrícicas

Después de la tinción, las raíces se colocaron en cajas petri con suficiente agua destilada. Se tomaron 15 segmentos de las raíces más finas de 1 cm y se colocaron de forma paralela en el portaobjetos previamente cuadrículado y se les agregó unas gotas de lactoglicerol. Posteriormente se colocó el cubreobjetos quedando listas las laminillas para su observación al microscopio. El porcentaje de infección de raíces se determinó con base a los segmentos colonizados por el hongo. Para ello, se tomaron como número de segmentos totales 25 campos de observación en una laminilla (Figura 11). Solo se contaron los segmentos que presentaron estructuras (vesículas y arbuscúlos) en cada uno de los campos de observación, tomando en cuenta solo la presencia de la estructura sin importar la abundancia de las mismas en cada una de las intersecciones de la raíz con la línea horizontal del portaobjetos.

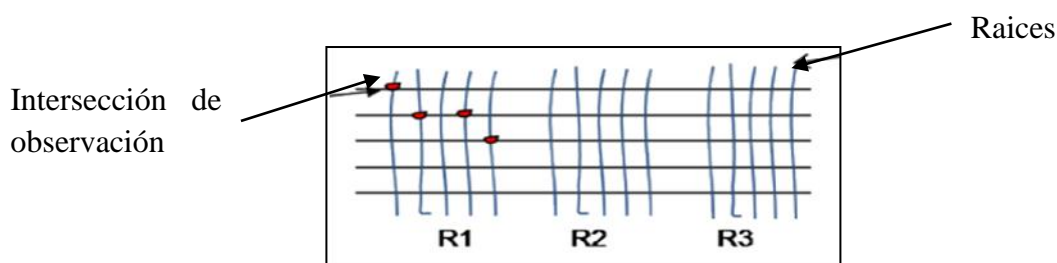


Figura 14.- Laminilla para observación al microscopio del porcentaje de colonización micorrícica.

Una vez realizada la observación microscópica de las raíces y haber procedido a contar los segmentos radicales colonizados o no colonizados por los HMA, se procede a calcular el porcentaje de la frecuencia de colonización de cada una de las estructuras micorrícicas (arbuscúlos, hifas y vesículas) con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Colonización total} = \frac{\text{Número de segmentos con arbuscúlos, hifas o vesículas}}{\text{Número de segmentos totales}} \times 100$$